



---

## **SKRIPSI**

**TIGA SANTON TERPRENILASI DARI AKAR**  
*Garcinia tetrandra* Pierre

**FAIZATUL MUTHIAH**  
**1413 100 038**

**Dosen Pembimbing :**  
**Prof. Dr. Taslim Ersam**

**DEPARTEMEN KIMIA**  
**FAKULTAS MATEMATIKAN DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**  
**INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER**  
**SURABAYA**  
**2017**



---

## **SCRIPT**

### **THREE PRENILATED XANTHONES FROM THE ROOT OF *Garcinia tetrandra* Pierre**

**FAIZATUL MUTHIAH  
1413 100 038**

**Advisor Lecturer :  
Prof. Dr. Taslim Ersam**

**CHEMISTRY DEPARTMENT  
FACULTY OF MATHEMATICS AND NATURAL SCIENCES  
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER  
SURABAYA  
2017**

**TIGA SANTON TERPRENILASI DARI AKAR *Garcinia*  
*tetrandra* Pierre**

**SKRIPSI**

Disusun untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar  
Sarjana Sains  
pada  
Departemen Kimia  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Institut Teknologi Sepuluh Nopember  
Surabaya

oleh:

**FAIZATUL MUTHIAH**  
**NRP. 1413 100 038**

Surabaya, 27 Juli 2017

DEPARTEMEN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN  
ALAM  
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER  
SURABAYA  
2017

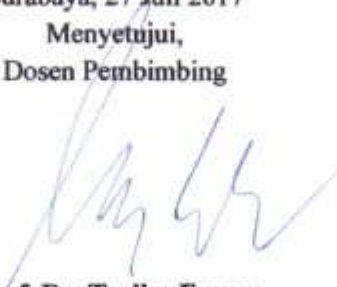
**LEMBAR PENGESAHAN**  
**TIGA SANTON TERPRENILASI DARI AKAR *Garcinia***  
***tetrandra* Pierre**

**SKRIPSI**

oleh :

**FAIZATUL MUTHIAH**  
**NRP. 1413 100 038**

Surabaya, 27 Juli 2017  
Menyetujui,  
Dosen Pembimbing

  
**Prof. Dr. Taslim Ersam**  
**NIP. 19520816 197903 1 004**

Mengetahui,  
Kepala Departemen Kimia

  
**Prof. Dr. Didik Prasetyoko, M.Sc**  
**NIP. 19710616 199703 1 002**

*Karya ini ku persembahkan kepada*  
*Ibu, Ayah dan kakak-kakak*  
*teman-teman Anorthite*  
*Serta teman-teman Laboratorium NPCS*

## **TIGA SANTON TERPRENILASI DARI AKAR *Garcinia tetrandra* Pierre**

**Nama Mahasiswa : Faizatul Muthiah**  
**NRP : 1413 100 038**  
**Departemen : Kimia**  
**Pembimbing : Prof. Dr. Taslim Ersam**

### **Abstrak**

*Garcinia tetrandra* Pierre merupakan salah satu tumbuhan endemik di Indonesia yang telah dikenal sebagai sumber senyawa santon. Pada penelitian ini, tiga senyawa santon terprenilasi, yaitu parvifolisanton C (1), maklurasanton (2) dan 9-hidroksikalabasanton (3), telah berhasil diisolasi dari akar *G.tetrandra* Pierre yang berasal dari Taman Nasional Meru Betiri Jember, Jawa Timur. Proses ekstraksi menggunakan pelarut metilena klorida dan difraksinasi menggunakan metode kromatografi cair vakum, kromatografi kolom gravitasi, kromatografi gel filtrasi dan sentrifugal kromatografi lapis tipis. Proses pemurnian senyawa dilakukan dengan metode rekristalisasi. Penentuan struktur senyawa ditentukan berdasarkan analisis data spektroskopi UV-Vis, IR, <sup>1</sup>H dan <sup>13</sup>C-NMR.

**Kata kunci:** *Garcinia tetrandra* Pierre, Guttiferae, Santon terprenilasi.

## **THREE PRENILATED XANTHONES FROM THE ROOT OF *Garcinia tetrandra* Pierre**

<b>Name</b>	<b>: Faizatul Muthiah</b>
<b>NRP</b>	<b>: 1413 100 038</b>
<b>Department</b>	<b>: Chemistry</b>
<b>Advisor Lecturer</b>	<b>: Prof. Dr. Taslim Ersam</b>

### **Abstract**

*Garcinia tetrandra* Pierre is one of endemic flora in Indonesia that has been known as the source of xanthones. In this research, three prenilated xanthones, named Parvifolisanton C (**1**), macluraxanthone (**2**) dan 9-hydroxycalabaxanthone (**3**), were isolated from root of *G.tetrandra* Pierre which came from Taman Nasional Meru Betiri Jember, East Java. That three compounds were extracted with metilene chloride, separated by vacuum liquid chromatography, column gravity chromatography, gel filtration chromatography and centrifugally accelerated thin layer chromatography, and also purificated by recrystalitation method. Their structure were determined by spectroscopic methods with UV, IR,  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$ -NMR. Three compounds that have been found can complete the mapping compounds of *G.tetrandra* Pierre.

**Keywords:** *Garcinia tetrandra* Pierre, Guttiferae, Prenilated xanthones.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga naskah Skripsi yang berjudul “Tiga Santon Terprenilasi dari Akar *Garcia tetrandra* Pierre” dapat diselesaikan dengan baik. Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih atas bantuan dari berbagai pihak yang sangat berperan dalam Penelitian Skripsi ini. Untuk itu penulis berterima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Taslim Ersam, selaku dosen pembimbing yang telah memberikan pengarahan dan bimbingan selama proses penelitian dan penyusunan naskah skripsi ini.
2. Prof. Dr. Didik Prasetyoko, M.Sc., selaku Ketua Departemen Kimia atas fasilitas yang telah diberikan sehingga Skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik.
3. Dr. Fahimah Martak, M.Si selaku dosen wali atas semua arahan yang diberikan.
4. Dosen beserta karyawan Departemen Kimia FMIPA ITS yang telah membantu.
5. Ibu Healthy Kainama dan Mas Edwin Risky Sukandar yang telah memberikan arahan dalam proses penelitian.
6. Bapak, Ibu dan kakak-kakak yang telah memberikan motivasi dan doa yang tiada henti.
7. Teman-teman mahasiswa Kimia FMIPA angkatan 2013 serta teman-teman kimia umumnya yang telah memberikan semangat untuk mengerjakan Skripsi ini.
8. Semua pihak yang telah membantu yang tidak mungkin saya sebutkan satu persatu.



Penulis menyadari bahwa penyusunan naskah Skripsi ini tidak lepas dari kekurangan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan guna perbaikan di kemudian hari. Semoga Skripsi ini memberikan manfaat bagi penulis dan pembaca.

Surabaya, 27 Juli 2017

Penulis

## DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN .....	iv
KATA PENGANTAR .....	viii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR .....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Permasalahan.....	2
1.3 Hipotesa.....	4
1.4 Tujuan.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Tinjauan Botani <i>Garcinia tetrandra</i> .....	5
2.2 Biosintesis Senyawa Fenolat Genus <i>Garcinia</i> .....	6
2.3 Tinjauan Senyawa Fenolat dari <i>Garcinia tetrandra</i> .....	8
2.5 Metode Pemisahan dan Pemurnian .....	11
2.5.1 Ekstraksi.....	11
2.5.2 Kromatografi.....	13
2.5.3 Rekristalisasi .....	17
2.5.4 Uji Titik Leleh .....	18
2.6 Karakterisasi Senyawa .....	18
2.6.1 Spektrofotometer UV-vis.....	18
2.6.2 Spektrofotometer IR .....	19
2.6.3 Spektrometer NMR.....	20
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....	23
3.1 Alat dan Bahan .....	23
3.1.1 Alat .....	23
3.1.2 Bahan .....	23
3.2 Prosedur Penelitian.....	24
3.2.1 Uji Pendahuluan.....	24
3.2.2 Ekstraksi.....	24
3.2.3 Fraksinasi .....	24
3.3 Penentuan Struktur Senyawa.....	27
3.3.1 Spektrofotometer UV-vis.....	27

3.3.2 Spektrofotometer IR .....	27
3.3.3 Spektrometer NMR.....	27
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....	29
4.1 Uji Pendahuluan .....	29
4.2 Ekstraksi.....	30
4.3 Fraksinasi dan Pemurnian Senyawa.....	30
4.4 Elusidasi Struktur .....	43
BAB V KESIMPULAN.....	59
5.1 Kesimpulan .....	59
5.2 Saran.....	59
DAFTAR PUSTAKA .....	61
LAMPIRAN A.....	65
LAMPIRAN B .....	69
LAMPIRAN C .....	77
BIODATA PENULIS .....	79

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.1	Jalur biogenesis pembentukan senyawa santon dari isolasi akar <i>G.tetrandra</i> .....	3
Gambar 2.1	Tumbuhan <i>Garcinia tetrandra</i> Pierre.....	6
Gambar 2.2	Jalur biosintesis senyawa fenolat .....	7
Gambar 2.3	TLC sentrifugal .....	17
Gambar 2.4	Pergeseran kimia $^1\text{H-NMR}$ .....	21
Gambar 2.5	Pergeseran kimia $^{13}\text{C-NMR}$ .....	22
Gambar 4.1	Kromatogram KLT hasil uji pendahuluan ekstrak (a: h-heksana); (b: metilena klorida); (c: etil asetat); dan (d: metanol) yang dimonitoring dengan eluen (1) n-heksana; (2) metilena klorida; (3) etil asetat; (4) metanol.....	29
Gambar 4.2	Kromatogram KLT hasil KCV 1 ekstrak pekat metile klorida dengan eluen etil asetat:n-heksana (20:80).....	31
Gambar 4.3	Kromatogram hasil uji tiga eluen senyawa 1 menggunakan pelarut (a) metilena klorida:n-heksana (1:1); (b) etil asetat:n-heksana (15:85); (c) aseton:metanol (2:8).....	32
Gambar 4.4	Kromatogram fraksi gabungan hasil KCV 1.....	33
Gambar 4.5	Kromatogram KLT hasil Sephadex LH-20 fraksi C dengan eluen etil asetat:n-heksana (20:80) .....	34
Gambar 4.6	Kromatogram KLT hasil Sephadex LH-20 fraksi D dengan eluen etil asetat:n-heksana (20:80) .....	34
Gambar 4.7	Kromatogram KLT dengan eluen etil asetat:n-heksan (2:8) untuk (a) fraksi CC6, DD5 dan E; (b) fraksi CC1, DD2, DD2 dan B .....	36
Gambar 4.8	Kromatogram KLT dengan eluen etil asetat:n-heksana (20:80) hasil dari KCV 2.....	36
Gambar 4.9	Kromatogram KLT hasil kromatotron fraksi OA dengan eluen etil asetat:n-heksana (20:80) .....	38
Gambar 4.10	Kromatogram KLT hasil kromatotron fraksi OB dengan eluen etil asetat:n-heksana (20:80) .....	38

Gambar 4.11	Kromatogram KLT hasil penggabungan fraksi OA dan OB dengan eluen etil asetat:n-heksana (20:80) .....	39
Gambar 4.12	Kromatogram hasil uji tiga eluen senyawa 2 menggunakan pelarut (a) aseton:n-heksana (5:95); (b) etil asetat:metilena klorida (5:95); (c) etil asetat:n-heksana (10:90) .....	40
Gambar 4.13	Kromatogram KLT hasil KKG fraksi L dengan eluen etil asetat:n-heksana (10:90).....	40
Gambar 4.14	Kromatogram KLT hasil kromatotron fraksi LC3 dengan eluen aseton:n-heksana (20:80).....	42
Gambar 4.15	Kromatogram hasil uji tiga eluen senyawa 3 menggunakan pelarut (a) metilena klorida:n-heksana (1:1); (b) aseton:n-heksana (2:8); (c) etil asetat:metilena klorida (2:98) .....	42
Gambar 4.16	Spektrum UV dari senyawa 2 pada MeOH dan MeOH+NaOH.....	43
Gambar 4.17	Kesetimbangan keto-enol.....	44
Gambar 4.18	Spektrum UV dari senyawa 2 pada MeOH, MeOH+AlCl <sub>3</sub> dan MeOH+AlCl <sub>3</sub> +HCl .....	45
Gambar 4.19	Spektrum IR dari senyawa 2 .....	45
Gambar 4.20	Hipotesis struktur senyawa 2 .....	46
Gambar 4.21	Spektrum UV dari senyawa 3 pada MeOH dan MeOH+NaOH.....	50
Gambar 4.22	Spektrum UV pada MeOH, MeOH+AlCl <sub>3</sub> dan MeOH+AlCl <sub>3</sub> +HCl .....	51
Gambar 4.23	Spektrum IR senyawa 3 .....	52
Gambar 4.24	Dugaan kerangka sederhana senyawa 3 (R=H atau R=CH <sub>3</sub> ) .....	53
Gambar 4.25	Jalur biogenesis pemebentukan senyawa santon dari isolasi <i>G.tetrandra</i> Pierre .....	57

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Urutan kepolaran senyawa organik (Houghton dan Raman, 1998).....	13
Tabel 2.2	Daerah serapan utama IR .....	20
Tabel 4.1	Pengelompokan fraksi hasil pemisahan KCV 1.....	33
Tabel 4.2	Pengelompokan fraksi hasil pemisahan fraksi D menggunakan sephadex LH-20 eluen metanol:metilena klorida (1:1).....	35
Tabel 4.3	Pengelompokan fraksi hasil pemisahan fraksi D menggunakan sephadex LH-20 eluen metanol:metilena klorida (1:1).....	35
Tabel 4.4	Pengelompokan fraksi hasil KCV 2 dari fraksi G....	37
Tabel 4.5	Pengelompokan fraksi hasil KKG dari fraksi L.....	41
Tabel 4.6	Data perbandingan pergeseran ( $\delta$ ) $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$ senyawa 2 dan maklurasanton dalam $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz (Sangsuwon dan Jiratchariyakul, 2015) ...	49
Tabel 4.7	Data perbandingan pergeseran ( $\delta$ ) $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$ senyawa 3 dan 9-hidroksikalabasanton dalam $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz (Trisuwan dan Ritthiwigrom, 2012).....	55

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki hutan tropis sangat luas dengan keanekaragaman hayati di dalamnya, khususnya dari keanekaragaman flora dan fauna. Keanekaragaman hayati tersebut berfungsi sebagai penghasil produk kimia hayati (Lukis dan Ersan, 2010). Produk kimia hayati umumnya dihasilkan dari tumbuhan tingkat tinggi, salah satunya dari famili Clusiaceae. Clusiaceae terdiri dari 40 genus dengan 1.200 spesies yang tersebar di seluruh dunia dengan lima genus utama yaitu *Mesua*, *Calophyllum*, *Mammea*, *Garcinia* dan *Cratoxylum* (Sultanbawa, 1980). Hasil penelitian menunjukkan bahwa famili Clusiaceae mengandung senyawa metabolit sekunder, khususnya fenolat, yang secara farmakologis berfungsi sebagai anti HIV, anti kanker, antiinflamasi, antitumor, pengobatan penyakit hepatitis, radang usus, dan antileukimia (Dharmante dan Wanigasekera, 1996; Peres dan Nagem, 1996).

*Garcinia* merupakan salah satu genus yang banyak menghasilkan senyawa metabolit sekunder. Tanaman ini tersebar di daerah Asia tropis, Polinesia dan Afrika. Salah satu spesies dari tanaman ini adalah *Garcinia tetrandra* Pierre atau yang dikenal dengan wadung. *G.tetrandra* Pierre juga dikenal sebagai tumbuhan endemik di Indonesia yang tersebar di beberapa wilayah antara lain Sulawesi dan Papua. Namun tanaman ini juga dikembangkan di Taman Nasional Meru Betiri, Jember (Viviyanti dan Ersan, 2015).

*G. tetrandra* Pierre belum banyak dieksplorasi, namun beberapa penelitian tentang tanaman ini telah dilakukan oleh kelompok peneliti kimia tumbuhan (Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya). Beberapa bagian tumbuhan *G. tetrandra* Pierre yang sudah dilakukan penelitian yakni pada kayu batang, kayu akar, kulit batang dan kulit akar. Isolasi tanaman ini

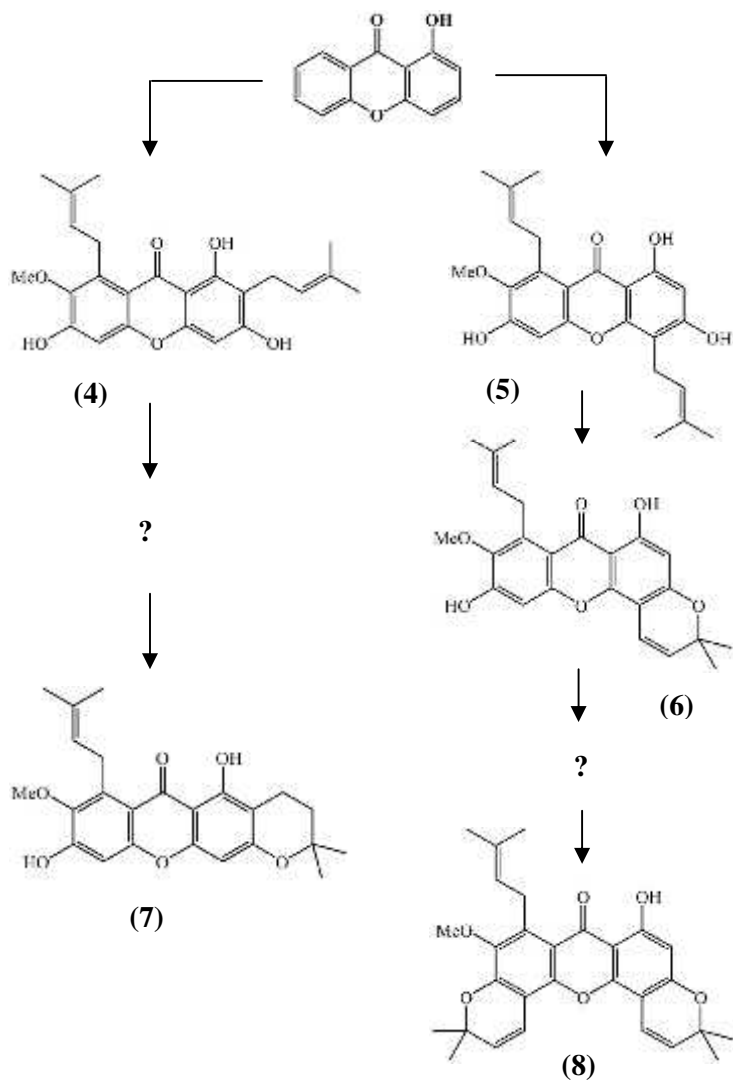
diperoleh senyawa santon yang berbeda satu dengan yang lain, yaitu senyawa santon terprenilasi, santon termodifikasi, dan santon teroksigenasi (Sulistyaningrum dan Ersam, 2012). Jenis santon terprenilasi -mangostin (**4**) dari kulit akar tanaman ini juga ditemukan pada *Garcinia Mangostana* dan dilaporkan aktivitasnya sebagai antibakteri (Suksamram dkk, 2003). Senyawa lain yang ditemukan pada kulit akar yaitu 1,3,6-trihidroksi-7-metoksi-4,8-diprenilsanton (**5**) yang dilaporkan oleh Rizani (2006), 3-isomangostin (**7**) yang dilaporkan oleh Astuti (2005), 1-hidroksi-7-metoksi-8-prenil-(3,4),(5,6)-dikromanosanton (**8**) dan 1,6-dihidroksi-7-metoksi-8-prenil-(3,4)-kromanosanton (**6**) yang dilaporkan oleh Meilani (2006).

Dari senyawa-senyawa yang telah ditemukan dapat disusun suatu jalur biogenesis pembentukan senyawa santon dari *G.tetrandra* Pierre. Berdasarkan pemetaan jalur biogenesis pada Gambar 1.1 terdapat kemungkinan ditemukan senyawa-senyawa antara atau senyawa lanjutan yang belum dieksplorasi. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lanjutan pada akar *G.tetrandra* Pierre dari Taman Nasional Meru Betiri, Jember.

## **1.2 Permasalahan**

Berdasarkan jalur biogenesis pembentukan senyawa santon dari isolasi *Garcinia tetrandra* Pierre (Gambar 1.1), masih terdapat peluang senyawa antara atau senyawa lanjutan yang dapat melengkapi jalur biogenesis tersebut.





Gambar 1. 1 Jalur biogenesis pembentukan senyawa santone dari isolasi *G.tetrandra*

### **1.3 Hipotesa**

Berdasarkan jalur biogenesis senyawa yang telah ditemukan di *G.tetrandra* Pierre (Gambar 1.1), terdapat peluang untuk mendapatkan senyawa baru yang belum didapatkan dari isolasi tumbuhan *G.tetrandra* Pierre.

### **1.4 Tujuan**

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh senyawa baru yang belum didapatkan dari *G.tetrandra* Pierre agar dapat melengkapi jalur biogenesis pembentukan senyawa santon dari isolasi *G.tetrandra* Pierre seperti pada Gambar 1.1.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Tinjauan Botani *Garcinia tetrandra*

*Garcinia* merupakan genus dari famili Clusiaceae yang memiliki sekitar 390 spesies. Tanaman ini tersebar di daerah Asia tropis, Polinesia dan Afrika. Sejak dahulu *Garcinia* telah digunakan oleh penduduk Asia untuk keperluan kuliner sebagai bumbu dan penambah rasa pada makanan menggantikan asam atau lemon (Semwal dkk, 2015). Salah satu spesies dari *Garcinia* yaitu *Garcinia tetrandra* Pierre. Tumbuhan tersebut termasuk jenis tumbuhan hutan tropika yang tersebar hampir di seluruh Indonesia, mulai dari Jawa, Sulawesi, Maluku dan NTT. Di masyarakat tumbuhan yang dikenal dengan nama “wadung” ini dilestarikan di Kebun Raya Bogor dan di kawasan pelestarian alam Taman Nasional Meru Betiri (Riyanto, 2006). *G. tetrandra* mampu hidup pada ketinggian 1200 meter di atas permukaan laut. Pohonnya memiliki ciri-ciri tinggi mencapai 18 meter dan diameter batangnya 30 cm (Gambar 1.1). Daunnya berbentuk lonjong, bunga jantan dan mahkota berwarna merah maron, berlekatan dengan empat benang sari. Buahnya bulat berwarna oranye kemerahan (Heyne, 1987). Secara taksonomi, tumbuhan ini diklasifikasikan sebagai berikut.

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisio	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Sub kelas	: <i>Dilleniidae</i>
Ordo	: <i>Theales</i>
Famili	: <i>Clusiaceae</i>
Genus	: <i>Garcinia</i>
Spesies	: <i>G. tetrandra</i> Pierre

(Cronquist, 1981)

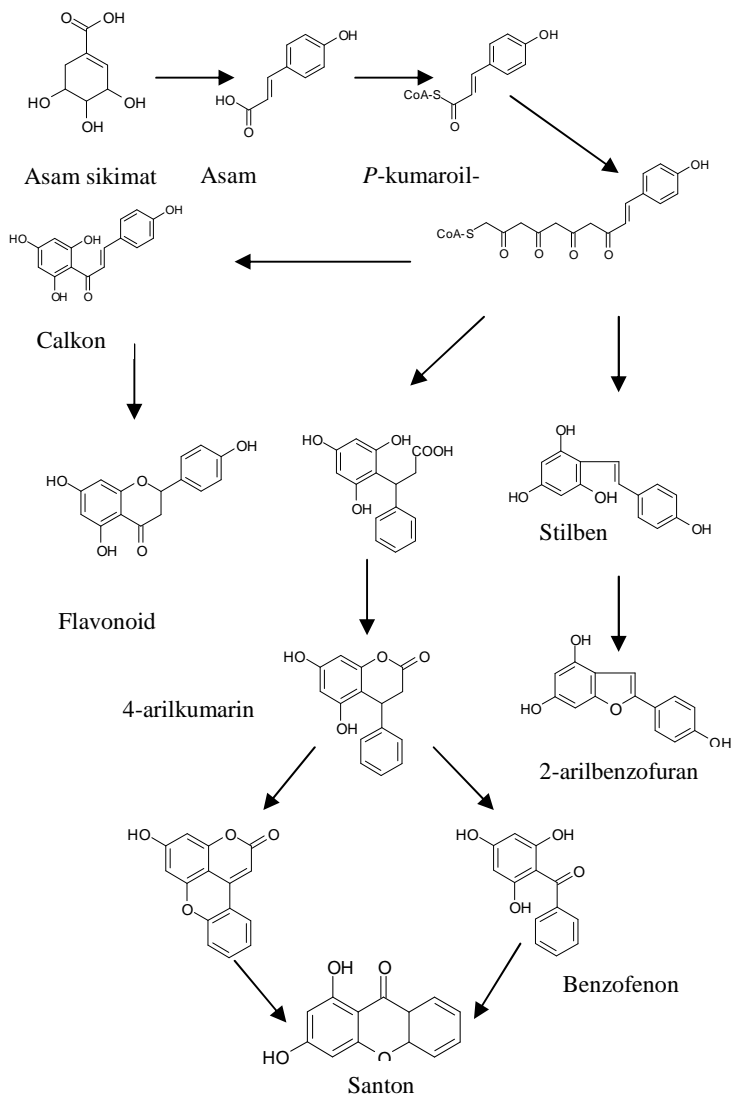


Gambar 2. 1 Tumbuhan *Garcinia tetrandra* Pierre

## 2.2 Biosintesis Senyawa Fenolat Genus *Garcinia*

Setiap tumbuhan tumbuh sebagai jenis atau spesies tertentu, maka senyawa metabolit yang disintesisnya akan spesifik pula, termasuk pada tumbuhan *G. tetrandra*. Senyawa metabolit suatu tumbuhan terdiri atas dua macam, yaitu senyawa metabolit primer dan metabolit sekunder. Senyawa metabolit primer adalah substansi yang dihasilkan dari proses metabolisme dasar untuk pertumbuhan atau perkembangan organisme yang bersangkutan. Metabolit ini tersebar secara alamiah sebagai bahan dasar pada setiap organisme termasuk tumbuhan, terdiri dari protein, karbohidrat, lemak, asam nukleat dan bahan dasar lainnya yaitu vitamin dan mineral. Sedangkan senyawa metabolit sekunder biasanya digunakan oleh tumbuhan untuk mempertahankan diri agar tetap tumbuh pada lingkungannya, biasanya bersifat toksik atau beracun bagi makhluk hidup lainnya tetapi aman bagi dirinya sendiri dan merupakan senyawa kimia yang spesifik pada tumbuhan tersebut (Peres dkk, 2000).

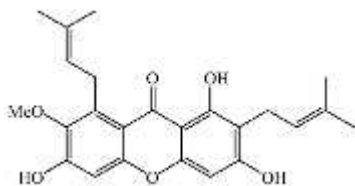
Senyawa fenolat mempunyai ciri khas cincin aromatis dengan gugus hidroksi yang terikat. Senyawa ini terbentuk melalui 2 jalur biosintesis (Gambar 2.2), yaitu jalur sikimat dan jalur asam asetat. Turunan senyawa yang dihasilkan dari proses biosintesis ini antara lain kumarin, tanin, flavon, benzofenon, dan santon (Morita, 2000).



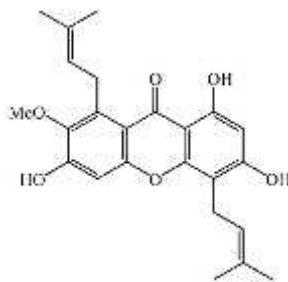
Gambar 2. 2 Jalur biosintesis senyawa fenolat

### 2.3 Tinjauan Senyawa Fenolat dari *Garcinia tetrandra*

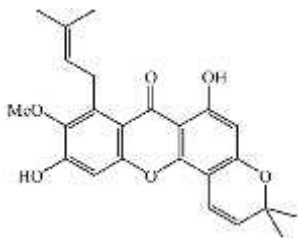
Sejauh ini, sudah banyak ditemukan senyawa fenolat dengan berbagai macam struktur hasil isolasi spesies dari tumbuhan *Garcinia*. Senyawa yang sering ditemukan adalah senyawa santon. Kelompok penelitian Kimia Tumbuhan ITS telah melaporkan beberapa senyawa santon dari *G. tetrandra*. Bagian tumbuhan yang diisolasi adalah kulit batang, kulit akar, kayu akar dan kayu batang. Adapun senyawa santon yang ditemukan pada kayu akar adalah -mangostin (**4**) yang dilaporkan oleh Kharomah (2015). Senyawa yang ditemukan pada kulit akar adalah 1,3,6-trihidroksi-7-metoksi-4,8-diprenilsanton (**5**) yang dilaporkan oleh Rizani (2006), 3-isomangostin (**7**) yang dilaporkan oleh Astuti (2005), 1-hidroksi-7-metoksi-8-prenil-(3,4),(5,6)-dikromano- santon (**8**) dan 1,6-dihidroksi-7-metoksi-8-prenil-(3,4)-kromano- santon (**6**) yang dilaporkan oleh Meilani (2006).



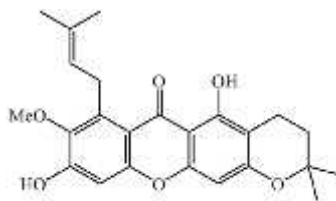
(4)



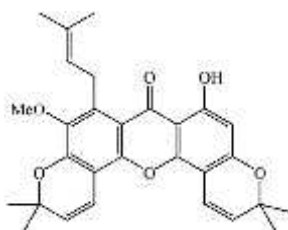
(5)



(6)

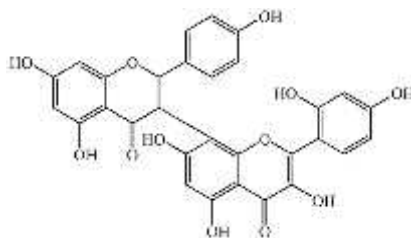


(7)

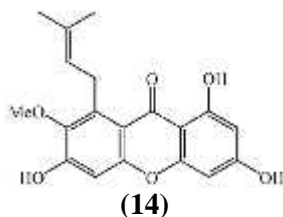
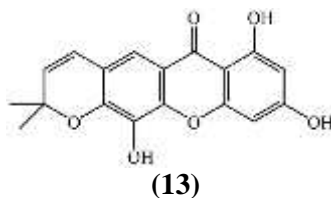
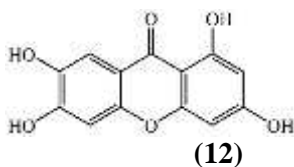
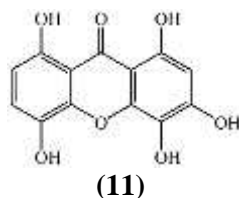
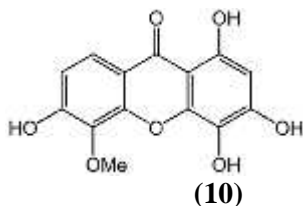


(8)

Senyawa yang ditemukan dari kayu batang adalah 5,7,4',3'',5'',7'',2'',4'''-heptahidroksi- [3,8'']-biflavanon (**9**) yang dilaporkan oleh Wahyudi (2015), 1,3,4,7-tetrahidroksi,5-metoksisanton (**10**) yang dilaporkan oleh Viviyanti (2015), 1,3,4,5,8-pentahidroksisanton (**11**), 1,3,6,7-tetrahidroksisanton (**12**) oleh Purwaningsih (2006), dan 1,3,5-trihidroksi-(5,6)-kromanosanton (**13**) dan dulsanton (**14**) oleh Riyanto (2006).

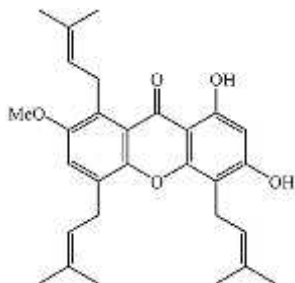


(9)

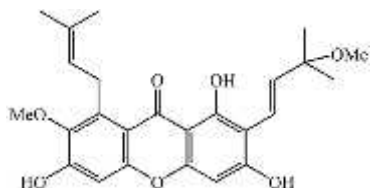


Senyawa turunan santon yang ditemukan pada kulit batang adalah 1,3-dihidroksi-7-metoksi-4,5,8-tripenilsanton yang dilaporkan **(15)** oleh Maulina (2006), 1,3,6-trihidroksi-7-metoksi-2-(3-metoksi-3-metilbut-1-enil)-8-prenilsanton **(16)** yang dilaporkan oleh Wijayanto (2006), 5,7,4',5'',7'',3''', 4'''-heptahidroksi-2'''-metoksi flavanon-[3,8'']-flavon **(17)** oleh Sulistyaningrum (2012), dan 1,3-dihidroksi-7-metoksi-4,5,8-tripenil santon **(18)**.

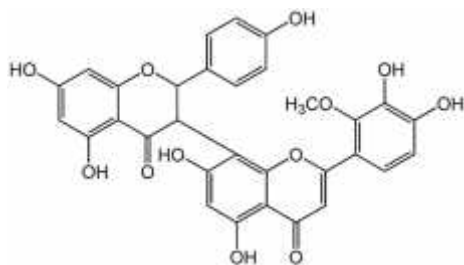




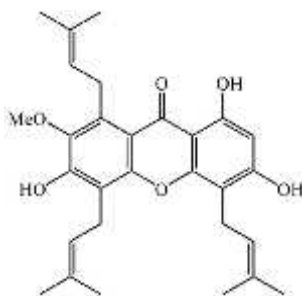
(15)



(16)



(17)



(18)

## 2.5 Metode Pemisahan dan Pemurnian

### 2.5.1 Ekstraksi

Ekstraksi adalah metode pemisahan suatu campuran berdasarkan perbedaan kelarutan komponen zat terlarut dalam pelarut. Distribusi pemisahan tersebut mengikuti prinsip *like*

*dissolve like* yang berdasarkan pada perbedaan kepolaran, yaitu senyawa yang polar akan larut dalam pelarut polar dan senyawa yang non polar akan larut dalam pelarut non polar (Pavia dkk., 1990).

Ekstraksi dibedakan menjadi dua berdasarkan bentuk campuran, yaitu ekstraksi cair-cair dan ekstraksi padat-cair. Ekstraksi cair-cair adalah Pemisahan zat dalam dua pelarut yang tidak saling larut menjadi dua senyawa penyusunnya berdasarkan perbedaan kelarutan. Prinsip dari ekstraksi ini adalah distribusi zat terlarut diantara dua pelarut yang tidak saling larut, perlu diketahui bahwa zat-zat tertentu akan larut lebih baik pada pelarut tertentu daripada menggunakan pelarut lain. Sehingga jika campuran ini dibiarkan, akan terjadi pemisahan menjadi dua lapisan (Vogel, 1990). Ekstraksi padat-cair adalah pemisahan suatu zat dimana substansi yang dipisahkan terdapat pada campuran yang berbentuk padat. Ekstraksi ini membutuhkan kontak yang cukup lama antara pelarut dan padatan (Kristanti dkk, 2008).

Dalam mengisolasi bahan alam, biasanya menggunakan metode ekstraksi padat-cair. Teknik ekstraksi ini memiliki tiga macam cara yaitu maserasi, perkolasi dan sokletasi. Maserasi adalah suatu teknik ekstraksi dengan cara perendaman bahan alam yang sudah halus pada temperatur kamar dengan pelarut yang sesuai supaya zat-zat dapat larut sempurna. Perkolasi adalah teknik ekstraksi dalam pelarut yang sesuai dengan cara mengalirkan pelarut ke dalam kolom yang telah berisi sampel secara perlahan. Dalam hal ini pelarut yang digunakan tidak mudah menguap dan dapat melarutkan senyawa kimia yang akan diisolasi dengan baik. Sokletasi adalah teknik ekstraksi dengan menggunakan alat soklet, dimana bahan yang halus dibungkus dengan kertas saring dan dimasukkan ke dalam alat tersebut, pelarutnya diuapkan dan uapnya akan melewati bahan sehingga dapat melarutkan zat-zat yang mudah larut dalam pelarut yang digunakan. Sedangkan perkolasi adalah suatu teknik ekstraksi

dengan bahan yang sudah halus diekstraksi dalam pelarut yang sesuai dengan cara pelarut secara perlahan-lahan dialirkan ke alam suatu kolom yang berisi cuplikan (Hardjosudirjo, 1991).

Ekstraksi bahan alam biasanya menggunakan pelarut organik dengan kepolaan tinggi menuju kepolaran yang lebih rendah (Tabel 2.1) (Houghton dan Raman, 1998).

Tabel 2. 1 Urutan kepolaran senyawa organik

Pelarut	Sifat kepolaran
Air	Polaritas menurun dari atas ke bawah
Metanol	
Asetonitril	
Etanol	
n-propanol	
Aseton	
Etil Asetat	
Etil eter	
Kloroform	
Metil klorida, tetrahidrofuran	
Toluena	
Benzena	
Karbon tetraklorida	
Sikloheksana	
Hidrokarbon (petroleum eter, heksana, heptana)	

### 2.5.2 Kromatografi

Kromatografi adalah teknik pemisahan campuran didasarkan atas perbedaan distribusi dari komponen-komponen campuran tersebut diantara dua fase, yaitu fase diam yang

berfungsi sebagai absorben dan fase gerak berupa pelarut yang berfungsi membawa senyawa yang kepolarannya sama. Pada Penelitian ini digunakan beberapa jenis kromatografi antara lain Kromatografi Cair Vakum (KCV), kromatografi Kolom, kromatografi Lapis Tipis, *centrifugally accelerated thin layer chromatography* (CTLC) dan Kromatografi Gel Filtrasi (Ibnu dkk, 2008).

#### **2.5.2.1 Kromatografi Cair Vakum**

Kromatografi Cair Vakum (KCV) adalah teknik pemisahan berdasarkan distribusi kelarutan dari daya absorpsi bahan antara fasa gerak dan fasa diam. Fasa diam berupa silika gel atau aluminium oksida, sedangkan fasa gerak berupa pelarut. Pemisahan senyawa pada KCV didasarkan pada kelarutan senyawa yang dipisahkan. Cuplikan yang dilarutkan dalam sedikit pelarut diimpregnasi dalam silika kemudian dimasukkan dalam kolom yang sudah disiapkan. Kolom dielusi dalam pelarut dengan perbandingan kepolaran tertentu dan divakum perlahan-lahan. Hasil yang didapatkan adalah pemisahan cuplikan dalam fraksi-fraksi yang berbeda berdasarkan tingkat kepolarannya (Hardjosudirjo, 1991). Perbedaan kepolaran senyawa menyebabkan perbedaan kecepatan turun. Senyawa yang mempunyai sifat kurang polar akan turun lebih dulu, dilanjutkan senyawa yang bersifat lebih polar. Hal ini dapat terjadi karena perbedaan kekuatan adsorpsi oleh fasa diam terhadap tiap-tiap komponen dalam larutan (Poole dan Salwa, 1991).

#### **2.5.2.2 Kromatografi Kolom**

Kromatografi kolom adalah teknik untuk memisahkan dan mengidentifikasi komponen dalam campuran. Prinsip dasarnya adalah bahwa komponen dalam campuran memiliki kecenderungan yang berbeda untuk menyerap ke permukaan atau larut dalam pelarut. Kromatografi kolom terbagi atas dua fase, yaitu fase diam (statis) dan fase gerak. Fase gerak berupa cairan, sedangkan fase diam berupa zat padat inert seperti silika gel

( $\text{SiO}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ ), alumina ( $\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ ) atau selulosa. Fase diam sangat penting dalam membuat kolom kromatografi cair karena fase diam harus jenuh dengan pelarut agar gelembung udara tidak masuk karena dapat menyebabkan pemisahan tidak seragam dan tidak efisien (Kristanti dkk, 2008).

### 2.5.2.3 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah salah satu metode kromatografi yang pemisahannya didasarkan pada adsorpsi senyawa oleh permukaan lempeng tipis untuk analisa kualitatif. Pada kromatografi lapis tipis digunakan adsorben halus yang berada pada papan kaca, alumunium atau plastik. Lapisan tipis adsorben ini pada pemisahan berlaku sebagai fasa diam. Dalam KLT indikasi senyawa selesai terekstrak dan didapatkan senyawa murni ditandai dengan tidak adanya noda/spot atau hanya noda tunggal pada plat (Hostettmann dkk, 1995). Tahapan analisis kromatografi lapis tipis yaitu pertama sampel ditetaskan menggunakan pipa kapiler pada plat dengan diameter  $\pm 3\text{mm}$  pada kromatografi lapis tipis digunakan adsorben halus. Plat tersebut dimasukkan dalam wadah yang telah berisi pelarut kemudian wadah tersebut ditutup agar suasana menjadi jenuh. Pelarut akan membawa senyawa ke bagian atas plat yang ditandai munculnya noda-noda. Dari noda yang dihasilkan dapat diidentifikasi senyawa-senyawa yang terpisah maupun dapat digolongkan berdasarkan nilai  $R_f$  yang hampir sama. Jika dihasilkan noda tunggal pada plat, hal ini menandakan kemurnian suatu senyawa (Kristanti dkk, 2008).

### 2.5.2.4 Kromatografi gel filtrasi

Kromatografi gel filtrasi (*gel filtration chromatography* / GFC) adalah metode kromatografi yang memisahkan molekul dalam larutan berdasarkan ukuran partikel. Pada GFC menggunakan gel yang terpasang pada kolom yaitu material berpori yang akan dilewati molekul dengan ukuran yang berbeda-beda. Molekul dengan ukuran lebih kecil dapat menembus ke

dalam pori-pori butiran dan karenanya molekul tersebut tertahan selama aliran ke bawah kolom. Sedangkan molekul yang lebih besar tidak dapat menembus ke dalam pori sehingga dapat melewati kolom lebih cepat (Colegate dan Molyneux, 2007).

Sephadex LH-20 merupakan salah satu jenis gel hidrofilik yang digunakan pada isolasi bahan alam. Gel ini biasanya menggunakan pelarut polar seperti air, metanol dan tetrahidrofur. Saat filtrasi gel menggunakan pelarut tunggal maka senyawa dipisahkan berdasarkan ukurannya, dengan berat molekul tidak lebih dari 4000 Da. Jika filtrasi gel menggunakan pelarut campuran, pelarut yang lebih polar akan tertahan oleh gel, lalu terbagi menjadi 2 fase yaitu fase diam dan fase gerak. Dalam kasus tersebut pemisahan senyawa akan menggunakan mekanisme partisi. Sephadex LH-20 sangat berguna untuk memisahkan molekul dengan ukuran besar dari sampel (Colegate dan Molyneux, 2007).

#### ***2.5.2.5 Centrifugally accelerated Thin Layer Chromatography (CTLC)***

CTLC adalah teknik kromatografi preparatif yang menggunakan gaya sentrifugal untuk memisahkan suatu komponen atau senyawa. Kromatotron memiliki prinsip yang sama dengan kromatografi biasa, namun pada kromatotron aliran fase gerak dipercepat dengan adanya gaya sentrifugal. Hal tersebut memungkinkan pemisahan senyawa dengan waktu yang lebih singkat (Agrawal dan Desai, 2015).

CTLC menggunakan fase diam berupa adsorben (lapisan penyerap) yang dibuat dari lapisan kaca yang dilapisi oleh silika. Plat tersebut dipasang pada motor listrik yang diputar dengan kecepatan tertentu (Gambar 2.3). Sedangkan fase gerak berupa pelarut yang diteteskan ke bagian tengah plat melalui pompa torak sehingga dapat mengalir melalui plat tipis karena gaya sentrifugal. Pemilihan eluen tergantung dari sampel dipisahkan. eluen yang digunakan berkisar dari n-heksana sampai metanol.

Lapisan plat harus jenuh sebelum sampel dimasukkan ke dalam plat. Biasanya plat dijenuhkan dengan pelarut n-heksana. Sampel yang akan dipisahkan harus dilarutkan dalam 0,5-2 ml pelarut dan disaring. Untuk mengetahui jalannya proses elusi maka dilakukan monitoring dengan lampu UV dengan 254 nm (Agrawal dan Desai, 2015).

Ada dua faktor yang mempengaruhi CTLC, yaitu laju alir fasa gerak dan kecepatan rotasi plat. Semakin cepat alaju alir maka semakin cepat pemisahannya, tetapi juga memerlukan eluen yang lebih banyak. Pemisahan yang baik dapat diperoleh jika menggunakan laju alir medium dan kecepatan rotasi yang medium pula (Agrawal dan Desai, 2015).



Gambar 2. 3 TLC sentrifugal

### **2.5.3 Rekristalisasi**

Rekristalisasi adalah proses pemurnian senyawa hasil isolasi dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Rekristalisasi dilakukan karena biasanya senyawa yang didapatkan dari hasil isolasi mempunyai kemurnian yang relatif rendah, oleh karena itu dibutuhkan proses kristalisasi. Proses kristalisasi terdiri dari beberapa tahap diantaranya melarutkan bahan dalam pelarut yang memiliki titik didih mendekati bahan yang akan dimurnikan, pemisahan larutan panas dari partikel yang tak larut, pemanasan larutan hingga didinginkan agar mendapatkan kristal kembali,

memisahkan kristal dari larutan induk. Padatan hasil rekristalisasi kemudian dikeringkan dan dilakukan uji kemurnian menggunakan penentuan titik leleh, metode spektroskopi maupun dianalisa menggunakan kromatografi lapis tipis. Jika pada uji KLT didapatkan noda tunggal, maka kemungkinan senyawa telah murni (J.P. Cannell, 1998).

#### **2.5.4 Uji Titik Leleh**

Titik leleh senyawa murni ditentukan dengan cara mengamati temperatur saat terjadinya perubahan wujud senyawa dari padatan hingga mencair. Padatan senyawa diletakkan pada alat penentu titik leleh kemudian suhu dinaikkan hingga padatan berubah menjadi cair. Senyawa dikatakan murni jika proses pelelehan padatan tersebut memiliki jarak yaitu  $1^{\circ}\text{C}$ . Jarak pelelehan lebih dari  $1^{\circ}\text{C}$  menunjukkan adanya pengotor pada senyawa (Firdaus, 2011).

### **2.6 Karakterisasi Senyawa**

#### **2.6.1 Spektrofotometer UV-vis**

Spektrofotometer UV-Vis merupakan analisis spektroskopi yang menilai sumber radiasi elektromagnetik ultraviolet dekat (200-400 nm) dan sinar tampak (400-780 nm) dengan memakai instrumen spektrofotometer untuk menentukan gugus pengabsorpsi dalam suatu molekul (Fessenden dan Fessenden, 1986). Gugus pengabsorpsi disebut juga kromofor. Kromofor menyebabkan terjadinya transisi elektronik, yaitu promosi elektron-elektron dari keadaan energi dasar ke arah tereksitasi atau berenergi tinggi. Dalam senyawa organik, terjadi eksitasi elektron elektron \* pada maks 210-280 nm yang mengindikasikan adanya gugus kromofor yang berkonjugasi ( $-\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{C}-$ ) dan eksitasi elektron n \* pada maks 320-400 nm yang mengindikasikan adanya gugus heteroatom terkonjugasi seperti gugus karbonil yang tersubstitusi pada suatu ena ( $-\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{O}$ ) (Fessenden dan Fessenden, 1986).



Prinsip Kerja spektroskopi UV-Vis berdasarkan hukum *Lambert Beer*, bila cahaya monokromatik ( $I_0$ ) melalui suatu media (larutan), maka sebagian cahaya tersebut diserap ( $I_a$ ), sebagian lagi dipantulkan ( $I_r$ ), dan sebagian lagi dipancarkan ( $I_t$ ). Panjang gelombang serapan UV-vis tergantung pada kemampuan molekul tersebut untuk melakukan promosi elektron. Molekul-molekul yang memerlukan lebih banyak energi untuk bertransisi, akan menyerap pada panjang gelombang yang lebih pendek (Fessenden dan Fessenden, 1986).

### 2.6.2 Spektrofotometer IR

Spektrofotometer Inframerah (IR) merupakan analisis struktur molekul untuk mengidentifikasi gugus fungsi dan jenis ikatan suatu molekul. Molekul organik yang berikatan kovalen akan mengalami gerakan vibrasi yang khas untuk tiap molekul. Vibrasi molekul yang terjadi tergantung pada kekuatan ikatan atau momen ikat. Molekul yang memiliki momen ikat yang berbeda akan bervibrasi pada frekuensi yang berbeda. Prinsip kerja dari alat ini adalah interaksi antara sinar radiasi elektromagnetik dengan materi mengakibatkan suatu molekul akan bervibrasi apabila sinar pada panjang gelombang IR terserap. Spektrum IR terdiri dari 2 daerah, yaitu daerah gugus fungsi ( $\lambda$  1650-4000  $\text{cm}^{-1}$ ) yang sangat informatif mengenai jenis-jenis gugus fungsi dan daerah *finger print* (650-1500  $\text{cm}^{-1}$ ) yang kurang informatif mengenai gugus fungsi, namun sangat karakteristik untuk membedakan tiap senyawa yang berbeda. Daerah serapan IR ditunjukkan pada Tabel 2.2 (Silverstein dkk, 2005).

Tabel 2. 2 Daerah serapan utama IR

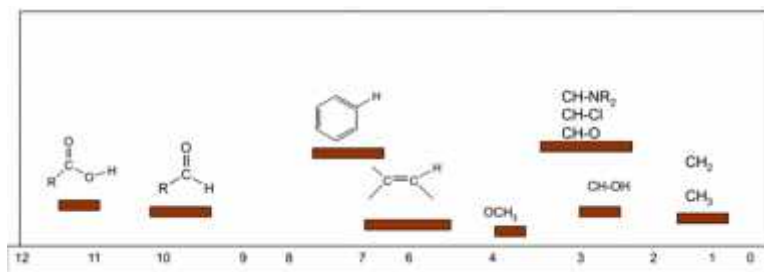
Gugus	Jenis Senyawa	Daerah Serapan ( $\text{cm}^{-1}$ )
-C-H	Alkana	2850-2960, 1350-1470
-C-H	Alkena	3020-3080, 675-1000
-C-H	Aromatik	3000-3100, 675-870
-C-H	Alkuna	3300
-C=C	Alkena	1640-1680
-C $\equiv$ C	Alkuna	2100-2260
-C=C	Aromatik (cincin)	1500-1600
-C-H	Alkana	2860-2960, 1350-1470
-C-O	Alkohol, eter, asam karboksilat, ester	1080-1300
-C=O	Aldehid, keton, asam karboksilat, ester	1690-1760
-O-H	Alkohol, fenol (monomer)	3610-3640
-O-H	Alkohol, fenol (ikatan H)	200-3600 (lebar)
-O-H	Asam karboksilat	500-3000 (lebar)
-N-H	Amina	3300-3500
-C-N	Amina	1180-1360
-C $\equiv$ N	Nitril	2210-2260
-NO <sub>2</sub>	Nitro	1515-1560, 1345-1385

### 2.6.3 Spektrometer NMR

Spektroskopi NMR adalah teknik teknik spektrometri yang dapat digunakan untuk menetapkan struktur suatu senyawa berdasarkan serapan gelombang elektromagnetik dengan frekuensi radio oleh inti atom yang berada dalam medan magnetik (Oxtoby, 2003). Metode ini memberikan gambaran mengenai jenis atom, jumlah, maupun lingkungan atom hidrogen ( $^1\text{H}$ -NMR) maupun karbon ( $^{13}\text{C}$ -NMR). Spektroskopi  $^1\text{H}$ -NMR mengukur momen magnet atom hidrogennya. Dapat diperoleh sinyal spektrum yang menunjukkan banyaknya proton di bagian-bagian molekul. Spektroskopi  $^{13}\text{C}$ -NMR menunjukkan sejumlah

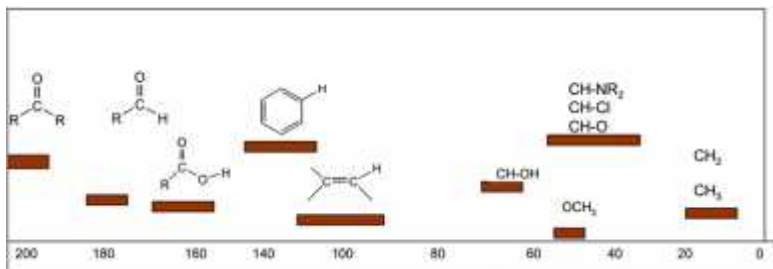
karbon yang terdapat dalam molekul dengan semua pergeseran kimia (Hart, 2003).

Dalam NMR untuk mengidentifikasi suatu senyawa digunakan senyawa standar Tetrametilsilain (TMS). TMS paling sering digunakan karena atom-atomnya sangat stabil sehingga sangat terlindungi untuk diresonansi oleh medan magnet luar ( $B_0$ ). Sedangkan atom-atom lain dapat mengalami pergeseran kimia karena perbedaan lingkungan sekitar atom tersebut. Peak atom akan muncul pada daerah up-field (mendekati TMS) apabila lingkungan sekitar atom bersifat melindungi (shielding) dari  $B_0$  dan akan sulit terjadi resonansi. Sebaliknya apabila peak atom muncul pada daerah down-field (menjauhi TMS) artinya lingkungan sekitar atom bersifat membuka (deshielding) terhadap  $B_0$  dan akan mudah terjadi resonansi. Nilai pergeseran kimia proton bernilai antara 0-12 ppm (Gambar 2.4). Sedangkan nilai pergeseran kimia karbon bernilai antara 0-200 ppm (Gambar 2.5) (Pavia, 1990).



Daerah medan rendah  $\longleftrightarrow$  Daerah medan tinggi

Gambar 2. 4 Pergeseran kimia  $^1\text{H}$ -NMR



Daerah medan rendah  $\longleftrightarrow$  Daerah medan tinggi

Gambar 2. 5 Pergeseran kimia  $^{13}\text{C}$ -NMR

## BAB III

### METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1 Alat dan Bahan

##### 3.1.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas seperti gelas ukur, kaca arloji, erlenmeyer, labu ukur, pengaduk kaca, pipet tetes, pipet volume, botol vial, pinset, mortar, pipa kapiler, bejana pengembang (*chamber*), neraca analitik, seperangkat alat kromatografi kolom (KKG), *rotary evaporator* vakum BUCHI, seperangkat alat kromatografi lapis tipis (KLT) dimonitoring dengan Sinar UV dengan 254 nm dan 366 nm, seperangkat alat chromatotron, seperangkat alat uji titik leleh *Fisher-John*, spektrofotometer FTIR dalam KBr *Shimadzu*, spektrofotometer UV-Vis *GENESYS 10S*, spektrometer 400 MHz  $^1\text{H}$  dan  $^{13}\text{C}$  NMR JNM ECA-600.

##### 3.1.2 Bahan

Tumbuhan yang digunakan dalam penelitian adalah *G.tetrandra* Pierre yang diperoleh dari Taman Nasional Meru Betiri Jember, Jawa Timur pada November 2016. Tanaman tersebut telah diidentifikasi oleh Deden Mudiana, S.Hut, M.Si, Kepala UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi. Sampel tumbuhan (no. XVII.J.11.10-10a, 19) disimpan di Laboratorium Kimia Bahan Alam dan Sintesis Departemen Kimia ITS.

Bahan lain yang digunakan dalam penelitian ini antara lain pelarut organik pro analisis dan teknis seperti n-heksana ( $\text{C}_6\text{H}_6$ ), metilen klorida ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), etil asetat ( $\text{EtOAc}$ ), metanol ( $\text{MeOH}$ ), kloroform, TLC *aluminium sheets* 20x20 cm silika gel *Merck* 60  $\text{F}_{254}$ , silika gel 60 (70-230 mesh) untuk impregnasi, silika gel 60 G untuk kromatografi kolom, sephadex LH-20, penampak noda serum sulfat ( $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ ) 1,5% dalam  $\text{H}_2\text{SO}_4$  2N, kertas saring, *aluminium foil*, *plastic wrap*, reagen geser UV

antara lain natrium hidroksida (NaOH),  $\text{AlCl}_3$ , asam klorida (HCl), dan natrium asetat ( $\text{CH}_3\text{COONa}$ ), KBr untuk uji IR, Pelarut untuk uji NMR yaitu Kloroform, MeOH dan DMSO.

## **3.2 Prosedur Penelitian**

### **3.2.1 Uji Pendahuluan**

Dalam melakukan uji pendahuluan, sampel *G.tetrandra* harus dikeringkan terlebih dahulu, lalu dihaluskan. Sampel tersebut diambil sebanyak 8 g kemudian diekstraksi dengan pelarut organik yang berbeda-beda masing-masing 10 ml n-heksana, metilena klorida, etil asetat, dan metanol selama 24 jam. Hasil ekstraksi tersebut dimonitoring dengan menggunakan KLT. Berdasarkan penampakan noda KLT maka dapat disimpulkan bahwa pelarut organik yang paling tepat untuk maserasi akar *G.tetrandra* adalah metilena klorida.

### **3.2.2 Ekstraksi**

Sampel kering akar *G.tetrandra* yang telah dihaluskan sebanyak 3,3 kg dimaserasi selama 3x24 jam menggunakan pelarut metilena klorida sebanyak 20 L. Setiap 24 jam sekali hasil ekstraksi diambil dan diganti dengan pelarut metilena klorida yang baru, kemudian dimonitoring dengan KLT untuk mengetahui konsentrasi senyawa yang telah terekstrak. Hasil ekstrak metilena klorida berwarna coklat kemudian disaring untuk memisahkan ekstrak cair dengan residunya. Lalu ekstrak cair tersebut dihilangkan pelarutnya dengan *rotary evaporator* sehingga didapatkan ekstrak pekat berwarna coklat.

### **3.2.3 Fraksinasi**

Penelitian ini menggunakan prosedur standar isolasi bahan alam dengan variasi kenaikan kepolaran pelarut. 122 g ekstrak pekat dari kulir *G.tetrandra* difraksinasi menggunakan Kromatografi Cair Vakum (KCV) dengan sistem peningkatan kepolaran pelarut yaitu n-heksana, metilena klorida:n-heksana (25:75; 45:55; 65:35; 85:15), metilena klorida, etil

asetat:metilena klorida (5:95; 10:90) dan etil asetat. Hasil KCV ditampung ke dalam 56 vial ukuran 300 ml dan dimonitoring dengan KLT dengan eluen etil asetat:n-heksana (20:80). Fraksi 33 dari hasil KCV 1 menunjukkan adanya endapan sehingga fraksi tersebut disaring vakum untuk memisahkan antara padatan dan pelarutnya. Selanjutnya padatan tersebut dicuci dengan n-heksana dan dilakukan KLT dengan tiga macam eluen yang berbeda kepolarannya. Hasil KLT tersebut menunjukkan noda tunggal sehingga fraksi 33 disebut Senyawa **1** (35 mg).

Fraksi-fraksi lain dari KCV 1 digabungkan berdasarkan kesamaan  $R_f$  noda sehingga dihasilkan enam fraksi gabungan yaitu fraksi A (5,1 g), B (14,25 g), C (3,37 g), D (2,7 g), E (19,82 g) dan F (36,33 g). Fraksi C difraksinasi menggunakan sephadex LH-20 dengan eluen metanol:metilena klorida (1:1) sehingga didapatkan 3 fraksi baru yaitu fraksi CC1 (280 mg), CC2 (210 mg), dan CC6 (201 mg). Selain itu fraksi D juga difraksinasi dengan metode yang sama dengan pada fraksi C sehingga didapatkan tiga fraksi baru yaitu fraksi DD1 (380 mg), DD2 (380 mg) dan DD5 (440 mg). Kemudian fraksi CC1-CC6 dan fraksi DD1-DD5 dilakukan KLT bersama dengan fraksi B dan fraksi E menggunakan eluen etil asetat:n-heksana (20:80). Fraksi E, CC6 dan DD5 memiliki kemiripan  $R_f$  noda sehingga tiga fraksi tersebut digabungkan membentuk fraksi baru yang disebut fraksi G (20,491 g). Sedangkan fraksi B memiliki kesamaan  $R_f$  noda dengan fraksi CC1, DD2 dan DD5 sehingga fraksi-fraksi ini digabungkan dan membentuk fraksi baru yang disebut fraksi L (15,29 g).

Fraksi G difraksinasi menggunakan Kromatografi Cair pelarut n-heksana, etil asetat:n-heksana (3:93; 10:90; 12:88; 15:85; 1:1; 75:25) dan etil asetat. Hasil KCV dimonitoring dengan KLT dengan eluen etil asetat:n-heksana (20:80). Hasil KCV 2 dikelompokkan berdasarkan kesamaan  $R_f$  noda sehingga dihasilkan delapan sub fraksi yang baru, yaitu fraksi N, O, P, Q, R, S, T dan U. Kemudian Fraksi O (260 mg) dibagi menjadi 2

bagian yaitu subfraksi OA dan OB. Subfraksi OA difraksinasi menggunakan kromatotron dengan eluen etil asetat : n-heksana (15:85) sehingga dihasilkan enam subfraksi yaitu OA1, OA2, OA3, OA4, OA5 dan OA6.

Selanjutnya dilakukan pemisahan fraksi OB menggunakan kromatotron seperti pada fraksi OA sehingga didapatkan delapan subfraksi yaitu OB1, OB2, OB3, OB4, OB5, OB6, OB7 dan OB8. Subfraksi dari OA dan OB dilakukan KLT secara bersamaan sehingga dari profil kromatogram yang memiliki Rf dan noda yang sama akan digabung kembali. Hasil dari penggabungan tersebut diperoleh 6 subfraksi yaitu P1 (45 mg), P2 (20 mg), P3 (24 mg), P4 (56 mg), P5 (38 mg) dan P6 (33 mg). Subfraksi P4 difraksinasi menggunakan kromatotron dengan eluen etil asetat:n-heksana (10:90). Hasil fraksinasi tersebut diuji KLT sehingga didapatkan 6 subfraksi yaitu PP1, PP2, PP3, PP4, PP5 dan PP6. Dari profil KLT PP6 terlihat satu noda tunggal yang selanjutnya diuji kemurniannya dengan uji tiga eluen dan uji titik leleh. Selanjutnya fraksi PP6 tersebut disebut senyawa **2** (18 mg).

Fraksi L difraksinasi menggunakan Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG) dengan pelarut aseton:n-heksana (10:90 ; 20:80 ; 30:70 ; 1:1 ; 65:15; 75:25). Hasil KKG ditampung dalam 53 vial dan dimonitoring menggunakan KLT dengan eluen etil asetat:n-heksana (10:90). fraksi-fraksi tersebut digabungkan sehingga didapatkan tujuh fraksi, yaitu LC1, LC2, LC3, LC3, LC4, LC5, LC6 dan LC7. Setelah itu dilakukan pemisahan Fraksi LC3 (55 mg) menggunakan kromatotron dengan eluen Aseton:n-heksana (2:8) dan ditampung ke dalam 15 vial (LC3/1 s/d LC3/15). Hasil tersebut dimonitoring dengan KLT eluen aseton:n-heksana (2:8). Selanjutnya vial LC3/5 s/d LC3/15 digabungkan dan disebut fraksi LC3'. Kemudian Fraksi LC3' diuji tiga eluen dengan kepolaran yang berbeda, yaitu metilena klorida:n-heksana (1:1), aseton:n-heksana (2:8), etil asetat:metilena klorida (2:98). Ketiga kromatogram KLT menunjukkan noda tunggal sehingga fraksi



LC' disebut senyawa **3**. Selanjutnya kristal dari senyawa **1**, **2**, dan **3** diukur dengan spektrofotometri UV-vis, spektrofotometri Infra merah (IR), spektrometri  $^1\text{H}$ -NMR dan  $^{13}\text{C}$ -NMR.

### **3.3 Penentuan Struktur Senyawa**

#### **3.3.1 Spektrofotometer UV-vis**

Senyawa **1** yang telah diisolasi diambil 1 mg dan dilarutkan ke dalam MeOH pa. MeOH pa diambil 4 ml dan dimasukkan ke dalam kuvet sebagai larutan blanko, kemudian larutan sampel diperlakukan dengan cara yang sama. Sampel diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-vis *GENESYS 10S* pada  $\lambda$  200-600 nm. Kemudian larutan sampel ditambahkan pereaksi geser berupa 3 tetes NaOH dan diukur absorbansinya. Setelah itu sampel yang baru ditambahkan 6 tetes  $\text{AlCl}_3$ , diukur absorbansinya dan selanjutnya dikeluarkan ditambahkan HCl 3 tetes dan diukur absorbansinya kembali. Selanjutnya sampel baru ditambahkan  $\text{CH}_3\text{COONa}$ , diukur absorbansi dan kemudian ditambah  $\text{H}_3\text{BO}_3$  dan diukur absorbansinya kembali. Senyawa **2** dan **3** juga diperlakukan sama dengan senyawa **1**.

#### **3.3.2 Spektrofotometer IR**

Senyawa **1** yang berhasil diisolasi diambil 1 mg. Ditambahkan KBr dan digerus sampai sampai homogen. Campuran ini dibuat pelet dengan ketebalan  $\pm 1$  mm. Pelet berisi sampel ini kemudian diukur serapannya pada bilangan gelombang 400-4000  $\text{cm}^{-1}$ . Spektrum yang terbentuk menunjukkan serapan bilangan gelombang terhadap transmisi (%T). Spektrofotometer IR yang digunakan adalah spektrofotometer IR BUCK *Scientific 500*. Senyawa **2** dan **3** juga diperlakukan sama dengan senyawa **1**.

#### **3.3.3 Spektrometer NMR**

Analisis spektrometri NMR dilakukan menggunakan spektrometer 400 MHz  $^1\text{H}$  dan  $^{13}\text{C}$  NMR JNM ECA. Sampel

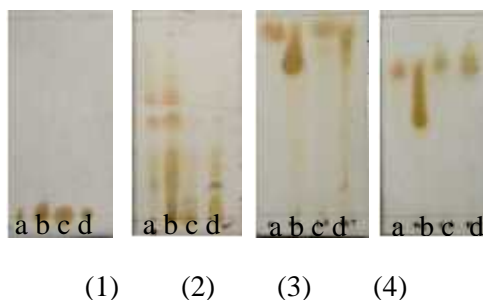
sebanyak 5 mg dilarutkan dalam kloroform bebas proton ( $\text{CDCl}_3$ ). Larutan sampel kemudian diinjeksikan ke dalam tabung injection dan dianalisis untuk mengetahui spektra  $^1\text{H}$ -NMR dan  $^{13}\text{C}$ -NMR.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Uji Pendahuluan

Uji pendahuluan bertujuan untuk menentukan pelarut yang tepat dalam proses ekstraksi yaitu mampu mengekstrak senyawa-senyawa pada sampel dengan baik. Uji pendahuluan dilakukan dengan cara mengekstrak serbuk kering akar *G.tetrandra* sebanyak 2 g dengan pelarut organik yang berbeda, yaitu masing-masing 10 ml *n*-heksana, metilena klorida etil asetat, dan metanol selaman 24 jam. Hasil ekstraksi tersebut diamati dengan KLT menggunakan empat eluen yang berbeda, yaitu *n*-heksana, metilena klorida etil asetat, dan metanol. Untuk melihat profil noda pada senyawa dilakukan dengan menyemprotkan serum sulfat ke noda lalu dipanaskan dalam oven. Berdasarkan penampakan noda KLT (Gambar 4.1) dapat disimpulkan bahwa pelarut yang tepat untuk maserasi adalah pelarut metilena klorida karena senyawa-senyawa target isolasi terekstrak dengan baik dibandingkan dengan eluen yang lain.



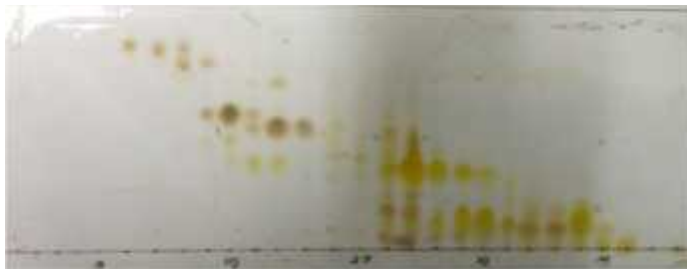
Gambar 4. 1 Kromatogram KLT hasil uji pendahuluan ekstrak (a: *n*-heksana); (b: metilena klorida); (c: etil asetat); dan (d: metanol) yang dimonitoring dengan eluen (1) *n*-heksana; (2) metilena klorida; (3) etil asetat; (4) metanol

## 4.2 Ekstraksi

Pada penelitian ini ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Sampel kering akar *G.tetrandra* sebanyak dimaserasi selama 3x24 jam menggunakan pelarut metilena klorida sebanyak 20 L. Hasil ekstrak diambil setiap 24 jam sekali dengan cara menyaringnya untuk memisahkan antara residu dan ekstrak cair. Residu tersebut ditambahkan pelarut metilena klorida yang baru dan dimaserasi kembali. Sedangkan ekstrak cair dimonitoring dengan KLT untuk mengetahui konsentrasi senyawa yang telah diekstrak. Kemudian hasil ekstrak cair berwarna coklat tersebut dihilangkan pelarutnya dengan *rotary vacuum evaporator* sehingga didapat ekstrak pekat berwarna coklat.

## 4.3 Fraksinasi dan Pemurnian Senyawa

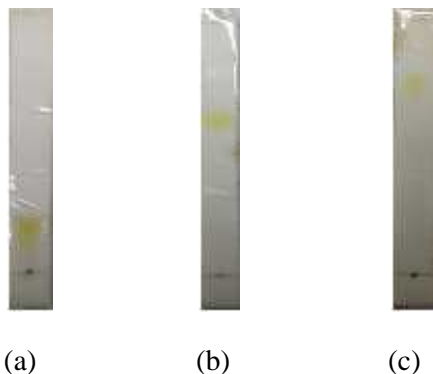
Ekstrak pekat metilena klorida akar *G.tetrandra* sebanyak 122 g difraksinasi dengan menggunakan metode KCV. Pelarut yang digunakan dengan sistem peningkatan kepolaran, yaitu n-heksana, metilena klorida:n-heksana (25:75; 45:55; 65:35; 85:15), metilena klorida, etil asetat:metilena klorida (5:95; 10:90) dan etil asetat. Hasil KCV ditampung ke dalam 56 vial ukuran 300 ml dan dimonitoring dengan KLT dengan eluen etil asetat:n-heksana (20:80) seperti pada Gambar 4.2. Monitoring ini dilakukan untuk mengetahui distribusi senyawa yang ada pada tiap vial dengan melihat Rf noda hasil KLT.



Gambar 4. 2 Kromatogram KLT hasil KCV 1 ekstrak pekat metile klorida dengan eluen etil asetat:n-heksana (20:80)

Metode Kromatografi cair vakum dipilih karena dapat digunakan untuk memisahkan sampel dengan massa yang cukup besar menjadi fraksi-fraksi yang lebih sederhana dan dengan waktu yang relatif cepat. Prinsip kerja KCV berdasarkan pada absorpsi dan partisi. Kolom diisi dengan fase diam berupa silika gel dan divakumkan dengan pompa vakum agar eluen sebagai fase gerak dapat turun mengelusi komponen kimia menjadi fraksi-fraksi yang lebih sederhana (Kristanti dkk, 2008). Dalam pemisahan dengan KCV dipilih pelarut yang mampu menunjukkan pemisahan terbaik terhadap sampel.

Fraksi 33 dari hasil KCV 1 menunjukkan adanya endapan sehingga fraksi tersebut tidak digabungkan dan disaring vakum untuk memisahkan antara padatan dan pelarutnya. Selanjutnya padatan tersebut dicuci dengan n-heksana dan dilakukan KLT dengan tiga macam eluen yang berbeda kepolarannya. Hasil kromatogram ditunjukkan pada Gambar 4.3.



Gambar 4. 3 Kromatogram hasil uji tiga eluen senyawa **1** menggunakan pelarut (a) metilena klorida:n-heksana (1:1); (b) etil asetat:n-heksana (15:85); (c) aseton:metanol (2:8)

Pada Gambar 4.3 menunjukkan bahwa padatan dari fraksi 33 hasil isolasi memiliki noda tunggal. Hal tersebut mengindikasikan bahwa padatan tersebut telah murni. Selanjutnya padatan berwarna kuning yang disebut senyawa **1** (35 mg) diuji titik leleh menggunakan alat pengukur titik leleh *Fisher John Melting Point* dan diperoleh titik leleh 154-155 °C. Senyawa dikatakan murni jika rentang titik lelehnya  $\pm 1^{\circ}\text{C}$ .

Untuk fraksi-fraksi lain dari hasil KCV 1 dikelompokkan sesuai dengan kesamaan  $R_f$  noda (Gambar 4.2), vial yang memiliki kesamaan  $R_f$  digabungkan menjadi satu fraksi. Pengelompokan fraksi ini menghasilkan enam fraksi gabungan (Tabel 4.1).

Tabel 4. 1 Pengelompokan fraksi hasil pemisahan KCV 1

Fraksi gabungan	No. Vial	Massa (g)
A	1-17	5,1
B	18-25	14,25
C	26-29	3,37
D	30-32	2,7
E	34-47	19,82
F	48-55	36,33

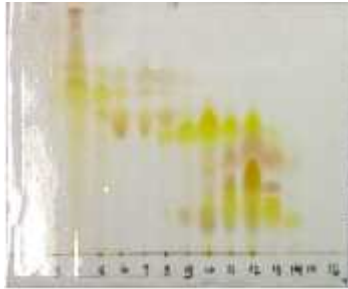
Setelah dikelompokkan, kemudian masing-masing fraksi gabungan dimonitoring dengan KLT dengan eluen etil asetat:n-heksana (20:80) yang ditunjukkan pada Gambar 4.4.



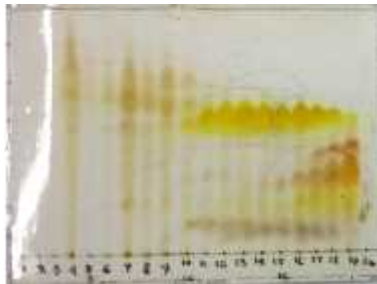
Gambar 4. 4 Kromatogram fraksi gabungan hasil KCV 1

Ditinjau dari hasil kromatogram fraksi gabungan maka dipilih fraksi C dan fraksi D untuk difraksinasi lebih lanjut. Fraksi C difraksinasi menggunakan sephadex LH-20 dengan eluen metanol:metilena klorida (1:1). Pemisahan dengan menggunakan sephadex berguna untuk memisahkan antara molekul ukuran besar dengan molekul ukuran kecil. Untuk fraksi D juga diperlakukan sama seperti fraksi C. Hasil sephadex dilakukan KLT seperti pada kromatogram. Kromatogram fraksi

C ditunjukkan pada Gambar 4.5, sedangkan fraksi D ditunjukkan pada Gambar 4.6.



Gambar 4. 5 Kromatogram KLT hasil Sephadex LH-20 fraksi C dengan eluen etil asetat:n-heksana (20:80)



Gambar 4. 6 Kromatogram KLT hasil Sephadex LH-20 fraksi D dengan eluen etil asetat:n-heksana (20:80)

Selanjutnya fraksi-fraksi tersebut dikelompokkan sesuai dengan kesamaan  $R_f$  noda. Hasilnya dapat ditunjukkan pada Tabel 4.2 untuk fraksi C dan Tabel 4.3 untuk fraksi D.



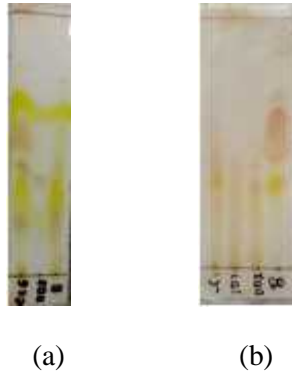
Tabel 4. 2 Pengelompokan fraksi hasil pemisahan fraksi D menggunakan sephadex LH-20 eluen metanol:metilena klorida (1:1)

Fraksi gabungan	No. Vial	Massa (mg)
CC1	1-5	280
CC2	6-8	210
CC6	9-16	201

Tabel 4. 3 Pengelompokan fraksi hasil pemisahan fraksi D menggunakan sephadex LH-20 eluen metanol:metilena klorida (1:1)

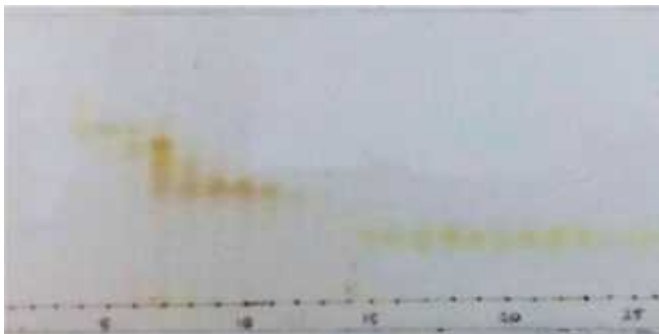
Fraksi gabungan	No. Vial	Massa (mg)
DD1	1-6	380
DD2	7-10	380
DD5	11-26	440

Dari hasil sephadex tersebut, fraksi CC1-CC6 dan fraksi DD1-DD4 yang memiliki kemiripan Rf noda dikelompokkan kembali menjadi fraksi gabungan baru. Selain itu juga dibandingkan dengan fraksi B dan fraksi E yang diperoleh dari KCV 1. Hasil dari KLT gabungan tersebut dapat dilihat pada Gambar 4.7. Fraksi E, CC6 dan DD5 memiliki kemiripan Rf noda sehingga tiga fraksi tersebut digabungkan membentuk fraksi baru yang disebut fraksi G (20,491 g). Sedangkan fraksi B memiliki kesamaan Rf noda dengan fraksi CC1, DD2, DD2 sehingga fraksi-fraksi ini digabungkan dan membentuk fraksi baru yang disebut fraksi L (15,29 g).



Gambar 4. 7 Kromatogram KLT dengan eluen etil asetat:n-heksan (2:8) untuk (a) fraksi CC6, DD5 dan E; (b) fraksi CC1, DD2, DD2 dan B

Fraksi G difraksinasi menggunakan Kromatografi Cair Vakum (KCV) dengan sistem kenaikan kepolaran pelarut yaitu n-heksana, etil asetat:n-heksana (3:93; 10:90; 12:88; 15:85; 1:1; 75:25) etil asetat. Hasil KCV dimonitoring dengan KLT dengan eluen etil asetat:n-heksana (20:80) seperti pada Gambar 4.8.



Gambar 4. 8 Kromatogram KLT dengan eluen etil asetat:n-heksana (20:80) hasil dari KCV 2

Hasil KCV 2 dikelompokkan berdasarkan kesamaan Rf noda sehingga dihasilkane delapan sub fraksi yang baru (Tabel 4.4).

Tabel 4. 4 Pengelompokan fraksi hasil KCV 2 dari fraksi G

Fraksi gabungan	Massa
N	1,51 g
O	260 mg
P	2 g
Q	2,5 g
R	3,1 g
S	2,3 g
T	1,8 g
U	280 g

Dari delapan fraksi tersebut, fraksi O memiliki profil noda KLT yang berpeluang munculnya senyawa-senyawa lain. Dikarenakan massa fraksi O terlalu banyak maka dibagi menjadi 2 bagian yaitu subfraksi OA dan OB. Subfraksi OA difraksinasi menggunakan kromatotron dengan eluen etil asetat:n-heksana (15:85). Pemisahan menggunakan kromatotron dipilih karena pada hasil KLT menunjukkan pola yang rapat. Pemisahan dengan cara ini lebih cepat dan pelarut yang digunakan lebih sedikit dibandingkan dengan KKG. Fasa diam kromatotron berupa silika gel yang dilapiskan pada plat kaca kuarsa dan fasa geraknya berupa pelarut yang sesuai dengan pola noda KLT. Hasil kromatotron dimonitoring dengan KLT eluen etil asetat:n-heksana (20:80) sehingga diperoleh 6 subfraksi yaitu OA1, OA2, OA3, OA4, OA5 dan OA6 (Gambar 4.9).



Gambar 4. 9 Kromatogram hasil kromatotron fraksi OA dengan eluen etil asetat:n-heksana (20:80)

Untuk fraksi OB difraksinasi menggunakan kromatotron seperti pada fraksi OA, hasilnya didapatkan 8 subfraksi yaitu OB1, OB2, OB3, OB4, OB5, OB6, OB7 dan OB8 (Gambar 4.10).



Gambar 4. 10 Kromatogram hasil kromatotron fraksi OB dengan eluen etil asetat:n-heksana (20:80)

Subfraksi dari OA dan OB diuji KLT secara bersamaan sehingga dari profil kromatogram yang memiliki  $R_f$  dan noda yang sama akan digabung kembali. Hasil penggabungan tersebut diperoleh 6 subfraksi yaitu P1, P2, P3, P4, P5, dan P6 (Gambar 4.11).



Gambar 4. 11 Kromatogram hasil penggabungan fraksi OA dan OB dengan eluen etil asetat:n-heksana (20:80)

Subfraksi P4 difraksinasi menggunakan kromatotron dengan eluen etil asetat : n-heksana (10:90). Hasil fraksinasi diuji KLT sehingga profil yang memiliki nilai  $R_f$  dan noda yang sama akan digabung kembali. Hasil penggabungan fraksi didapatkan 6 subfraksi yaitu PP1, PP2, PP3, PP4, PP5 dan PP6. Dari profil KLT PP6 terlihat 1 noda tunggal yang selanjutnya diuji kemurniannya dengan uji tiga eluen dan uji titik leleh. Hasil kromatogram (Gambar 4.12) menunjukkan adanya noda tunggal, maka dapat disimpulkan bahwa fraksi PP6 telah murni. Selanjutnya fraksi tersebut disebut senyawa **2** (18 mg). Selanjutnya senyawa **2** diuji titik leleh menggunakan alat pengukur titik leleh *Fisher John Melting Point* dan diperoleh titik leleh 197-198 °C.



Gambar 4. 12 Kromatogram hasil uji tiga eluen senyawa **2** menggunakan pelarut (a) aseton:n-heksana (5:95); (b) etil asetat:metilena klorida (5:95); (c) etil asetat:n-heksana (10:90)

Fraksi L difraksinasi menggunakan Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG) dengan pelarut aseton:n-heksana (10:90 ; 20:80 ; 30:70 ; 1:1 ; 65:15; 75:25). Hasil KKG ditampung dalam 53 vial dan dimonitoring menggunakan KLT lalu disemprot dengan reagen penampak noda  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$  5% (Gambar 4.13).



Gambar 4. 13 Kromatogram hasil KKG fraksi L dengan eluen etil asetat:n-heksana (10:90)

Hasil KKG tersebut dikelompokkan berdasarkan kesamaan Rf noda sehingga dihasilkan tujuh sub fraksi yang baru (Tabel 4.5).

Tabel 4. 5 Pengelompokan fraksi hasil KKG dari fraksi L

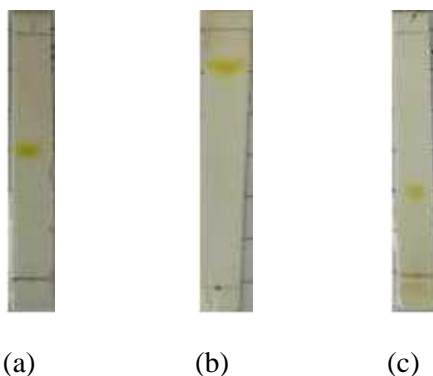
Fraksi gabungan	No. Vial	Massa
LC1	1-15	1,6 g
LC2	16-24	2,1 g
LC3	25-28	55 mg
LC4	34-36	200 mg
LC5	37-39	3,25 g
LC6	40-45	1,3 g
LC7	45-53	3,5 g

Dari ketujuh sub fraksi (Tabel 4.5), LC3 memiliki penampakan noda yang cukup sederhana. Oleh karena itu dilakukan pemisahan Fraksi LC3 menggunakan kromatotron dengan eluen Aseton:n-heksana (2:8). Pemisahan dengan kromatotron dipilih karena fraksi LC3 memiliki noda yang sudah sederhana dan massanya relatif sedikit sehingga proses fraksinasi akan lebih efisien. Hasil kromatotron tersebut ditampung ke dalam 16 vial dan dimonitoring dengan KLT eluen aseton:n-heksana (2:8). Selanjutnya vial LC3/5 s/d LC3/15 digabungkan karena memiliki noda Rf yang sama (Gambar 4.14) dan disebut fraksi LC3'.



Gambar 4. 14 Kromatogram hasil kromatotron fraksi LC3 dengan eluen aseton:n-heksana (20:80)

Pada Gambar 4.14 menunjukkan bahwa fraksi-fraksi tersebut memiliki noda tunggal sehingga dimungkinkan bahwa fraksi-fraksi tersebut murni. Untuk membuktikan kemurniannya dilakukan uji tiga eluen dengan kepolaran yang berbeda. Hasil kromatogram (Gambar 4.15) menunjukkan adanya noda tunggal, maka dapat disimpulkan bahwa fraksi LC3' telah murni. Selanjutnya fraksi tersebut disebut senyawa **3** (11 mg).



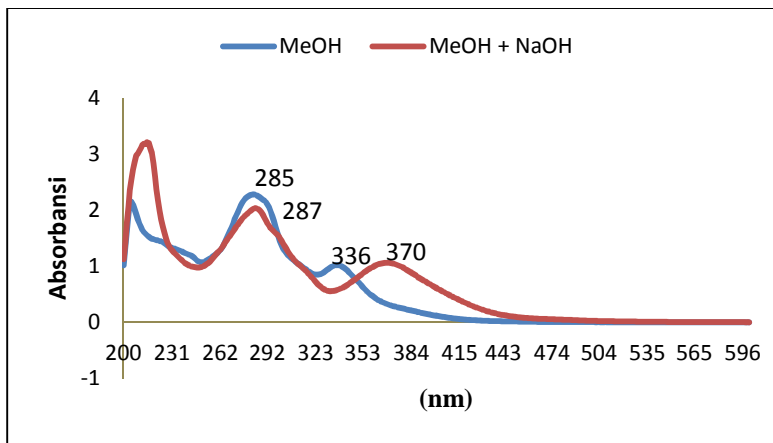
Gambar 4. 15 Kromatogram hasil uji tiga eluen senyawa **3** menggunakan pelarut (a) metilena klorida:n-heksana (1:1); (b) aseton:n-heksana (2:8); (c) etil asetat:metilena klorida (2:98)



#### 4.4 Elusidasi Struktur

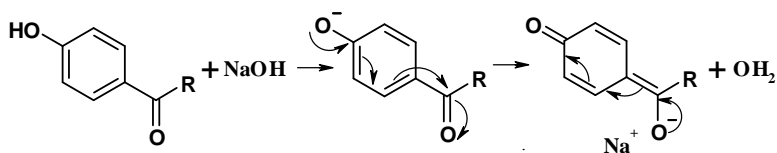
Senyawa **2** berbentuk kristal warna oranye dengan massa 17 mg. Penentuan struktur senyawa **2** menggunakan data spektroskopi UV-Vis, IR,  $^1\text{H-NMR}$  dan  $^{13}\text{C-NMR}$ .

Berdasarkan hasil spektrum UV-Vis menggunakan rentang 200-600 nm, senyawa **2** memberikan dua puncak serapan yaitu pada  $\lambda_{\text{maks}}$  285 nm dan 336 nm. Puncak pada  $\lambda_{\text{maks}}$  285 nm menunjukkan adanya eksitasi elektron dari  $\pi \rightarrow \pi^*$  yang merupakan kromofor khas untuk sistem ikatan rangkap terkonjugasi ( $-\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{C}-$ ) senyawa aromatik. Sedangkan puncak pada  $\lambda_{\text{maks}}$  336 nm menunjukkan adanya eksitasi elektron dari  $n \rightarrow \pi^*$  yang menandakan adanya sistem terkonjugasi ( $-\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{O}$ ) dari suatu heteroatom dengan ikatan rangkap terkonjugasi. Berdasarkan data tersebut, maka dapat disarankan bahwa senyawa **2** memiliki sistem aromatik dan karbonil terkonjugasi yang khas untuk kerangka santon (Tanaka dkk, 2004).



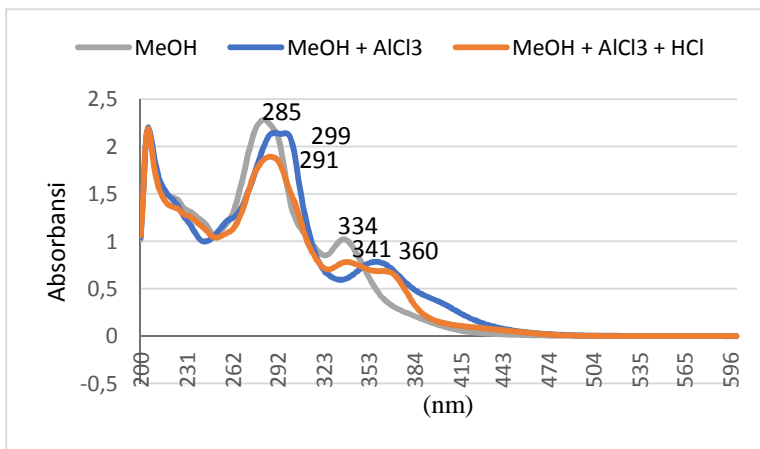
Gambar 4. 16 Spektrum UV dari senyawa **2** pada MeOH dan MeOH+NaOH

Penambahan basa NaOH menyebabkan pergeseran batokromik terhadap pita pertama dari  $\lambda_{\text{maks}}$  336 nm menjadi 370 nm (Gambar 4.16). Hal ini menunjukkan adanya gugus penarik elektron (C=O) yang terletak pada posisi para dengan gugus pendorong elektron (-OH) dan mengalami kesetimbangan keto-enol (Gambar 4.17). Hal ini menunjukkan adanya suatu senyawa fenolat (Ito dkk, 1997).



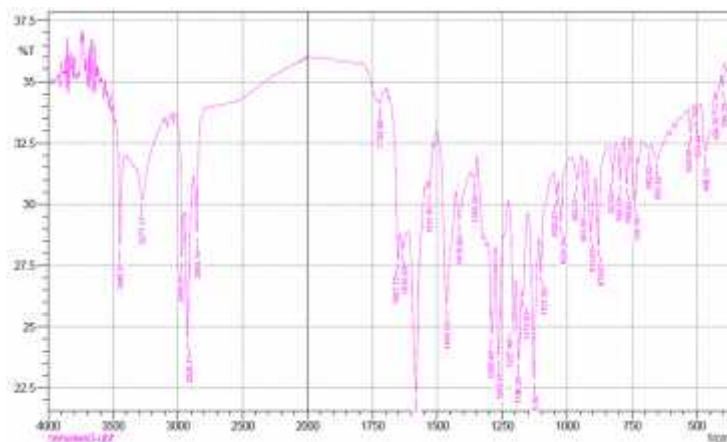
Gambar 4. 17 Kesetimbangan keto-enol

Penambahan  $\text{AlCl}_3/\text{HCl}$  digunakan untuk mengetahui keberadaan gugus *o*-hidroksi serta gugus hidroksi yang bertetangga dengan gugus karbonil. Peluang munculnya dua jenis gugus tersebut ditandai dengan adanya pergeseran batokromik setelah ditambahkan  $\text{AlCl}_3/\text{HCl}$ . Pada senyawa **2** terjadi pergeseran puncak pita dari 360 nm menjadi 341 nm (Gambar 4.18), hal ini menunjukkan bahwa senyawa **2** mengandung gugus hidroksi yang pada posisi C-1 maupun gugus *o*-hidroksi.



Gambar 4. 18 Spektrum UV dari senyawa **2** pada MeOH, MeOH+AlCl<sub>3</sub> dan MeOH+AlCl<sub>3</sub>+HCl

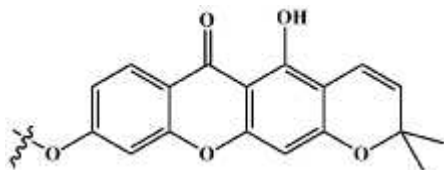
Dari hasil pembahasan analisis spektrum UV maka dapat disarankan bahwa senyawa **2** mempunyai kerangka santon dengan substitusi gugus hidroksi pada posisi *ortho* terhadap gugus karbonil.



Gambar 4. 19 Spektrum IR dari senyawa **2**

Analisis spektrum inframerah (IR) (KBr) senyawa **2** pada bilangan gelombang 500-4000  $\text{cm}^{-1}$  (Gambar 4.19) menunjukkan adanya pita-pita serapan yang khas untuk beberapa gugus fungsi. Pita serapan pada bilangan gelombang 1581,68  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan adanya gugus karbonil terkhelat dan didukung dengan adanya bilangan gelombang 3556,91  $\text{cm}^{-1}$  yang mencirikan gugus hidroksi. Kekhasan ( $-\text{C}=\text{C}-$ ) alilil  $\text{sp}^2$  ditunjukkan pada bilangan gelombang 1464,02  $\text{cm}^{-1}$ , sedangkan C-O eter atau hidroksi pada 1128,39  $\text{cm}^{-1}$ . selain itu, pita serapan pada 2968,55  $\text{cm}^{-1}$ , 2926,11  $\text{cm}^{-1}$  dan 2854,74  $\text{cm}^{-1}$  mengindikasikan adanya gugus C-H alifatik ( $\text{sp}^3$ ).

Hasil analisis spektrum IR memperkuat dugaan sebelumnya bahwa senyawa **2** memiliki kerangka dasar santon terkhelat dengan substitusi gugus hidroksi pada posisi *ortho* terhadap karbonil yang dibuktikan adanya pita serapan pada 3556,91  $\text{cm}^{-1}$  ( $-\text{OH}$ ) dan 1128,39  $\text{cm}^{-1}$  (C-O hidroksi). Selain itu, senyawa ini diduga santon yang tersubstitusi oleh gugus turunan isopentena yang ditandai munculnya pita serapan aril  $\text{sp}^2$  dan C-H alifatik ( $\text{sp}^3$ ). Turunan isopentena umumnya berupa kelompok 1,2-dimetilalil, 3,3-dimetilalil, 2,2-dimetilkromen atau 2,3-dihidro-2,3,3-trimetilfuran (Gambar 4.20) (Silva dan Pinto, 2005).



Gambar 4. 20 Hipotesis struktur senyawa **2**

Untuk mendukung hipotesis di atas, maka dilakukan analisis data  $^1\text{H-NMR}$  dan  $^{13}\text{C-NMR}$ . Pada penelitian ini pengukuran NMR menggunakan pelarut  $\text{CDCl}_3$  (kloroform) dengan frekuensi 400 MHz. Spektrum  $^1\text{H-NMR}$  memberikan informasi bahwa senyawa **2** mengandung 14 sinyal proton.

Sedangkan spektrum  $^{13}\text{C}$ -NMR menunjukkan senyawa **2** sedikitnya memiliki 23 atom karbon.

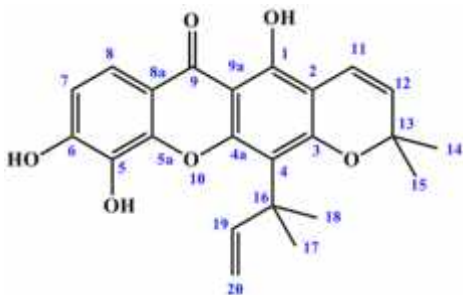
Spektrum  $^1\text{H}$ -NMR memberikan informasi bahwa senyawa **2** mengandung 14 sinyal proton. Satu proton pada ( $_{\text{H}}$ ) 13,53 (1H, s) menandakan adanya hidroksi khelat yang juga diperkuat munculnya pergeseran kimia ( $_{\text{C}}$ ) 180,81 ppm. Dugaan adanya substituen hidroksi terkhelet juga telah dibuktikan oleh data IR dan UV-Vis. Dua proton dengan kopling yang sama menunjukkan bahwa kedua proton berposisi *ortho* terdapat pada pergeseran ( $_{\text{H}}$ ) 6,95 (1H, d,  $J=8,8$  Hz) dan ( $_{\text{H}}$ ) 7,69 (1H, d,  $J=8,8$  Hz). Adanya gugus prenil tersiklasi ditunjukkan oleh sinyal gugus vinil pada ( $_{\text{H}}$ ) 6,77 (1H, d,  $J=10$  Hz) dan ( $_{\text{H}}$ ) 5,62 (1H, d,  $J=10$  Hz). Selain itu juga terdapat sinyal dari gugus vinil lain pada pergeseran ( $_{\text{H}}$ ) 6,73 (1H, dd,  $J=17,5$  Hz), 5,05 (1H, d,  $J=10,6$  Hz) dan 7,69 (1H, d,  $J=17,5$  Hz) yang merupakan ciri kelompok prenil. Selain itu juga terdapat dua pasang sinyal metil *overlapping* ( $_{\text{H}}$ ) 1,51 (1H, s) dan ( $_{\text{H}}$ ) 1,65 (1H, s).

Adanya sinyal vinil pada pergeseran pada ( $_{\text{H}}$ ) 6,77 (1H, d,  $J=10$  Hz) dan ( $_{\text{H}}$ ) 5,62 (1H, d,  $J=10$  Hz) diikuti munculnya satu pasang metil *overlapping* pada pergeseran ( $_{\text{H}}$ ) 1,51 (1H, s) menandakan keberadaan 2,2-dimetil kromen (Trisuwan dan Ritthiwigrom, 2012), hal ini juga dibuktikan oleh Pergeseran kimia ( $_{\text{C}}$ ) 78,9 ppm merupakan ciri khas dari atom karbon percabangan gugus metil pada 2,2-dimetil kromen. Data  $^1\text{H}$ -NMR juga mengindikasikan adanya kelompok sinyal 1,1-dimetilalil yang ditandai dengan munculnya gugus metilen pada pergeseran ( $_{\text{H}}$ ) 6,73 (1H, dd,  $J=17,5$  Hz), 5,05 (1H, d,  $J=10,6$  Hz) dan 7,69 (1H, d,  $J=17,5$  Hz) diikuti oleh satu pasang metil *overlapping* pada pergeseran ( $_{\text{H}}$ ) 1,65 (1H, s). Hal tersebut juga diperkuat oleh Pergeseran kimia ( $_{\text{C}}$ ) 41,61 ppm yang merupakan ciri khas dari atom karbon percabangan gugus dimetil dari 1,1-dimetilalil. Dari data tersebut maka dapat disimpulkan bahwa senyawa **2** memiliki kerangka santon yang telah tersubstitusi oleh

gugus hidroksi, satu cincin dimetilkromen dan satu gugus 1,1-dimetilalil.

Sinyal lain yang muncul pada spektrum  $^{13}\text{C}$ -NMR yaitu pergeseran kimia 150,67 dan 151,17 ppm mengindikasikan karbon yang telah tersubstitusi oleh gugus hidroksi dan pergeseran 157,76 ppm merupakan karbon khas yang berikatan dengan hidroksi khelat. Selain itu juga muncul sinyal gugus metil *overlapping* pada pergeseran 28,10 ppm dari kelompok dimetilkromen dan 29,85 ppm dari kelompok 1,1-dimetilalil.

Untuk mengetahui posisi substituen pada senyawa **2**, maka dilakukan perbandingan data NMR terhadap senyawa santon yang telah diteliti sebelumnya. Berdasarkan Tabel 4.6 dapat dibuktikan bahwa senyawa **2** memiliki kemiripan data NMR dengan maklurasanton. Sehingga dapat disimpulkan bahwa senyawa **2** merupakan senyawa yang telah dilaporkan sebelumnya yaitu maklurasanton dengan rumus molekul  $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{O}_6$  (Sangsuwon dan Jiratchariyakul, 2015).



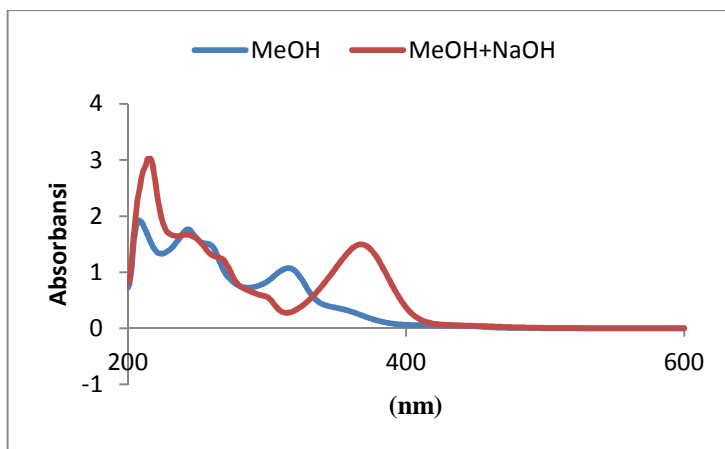
(2)

Tabel 4. 6 Data perbandingan pergeseran (  $\delta$  )  $^1\text{H}$ -NMR dan  $^{13}\text{C}$  NMR senyawa **2** dan maklurasanton dalam  $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz (Sangsuwon dan Jiratchariyakul, 2015)

Posisi C	maklurasanton		senyawa <b>2</b>	
	$^{13}\text{C}$ - NMR	$^1\text{H}$ -NMR	$^{13}\text{C}$ - NMR	$^1\text{H}$ -NMR
1	157,3	13,9 (1H,s)	157,76	13,53 (1H, s)
2	105,7		105,71	
3	156		156,95	
4	114,2		114,45	
4a	159,1		159,3	
4b	133,7		134,35	
5	150,6		150,67	
6	151,9		151,17	
7	113,7	6,88 (1H, d, $J=9$ Hz)	112,89	6,95 (1H, d, $J = 8,8$ Hz)
8	117,1	7,65 (1H, d, $J=9$ Hz)	117,68	7,69 (1H, d, $J = 8,8$ Hz)
8a	114,3		114,96	
9	180,9		180,81	
9a	103,1		103,63	
11	116,1	6,69 (1H, d, $J = 10$ Hz)	116,71	6,77 (1H, d, $J = 10$ Hz)
12	128,2	5,55 (1H, d, $J = 10$ Hz)	128,52	5,62 (1H, d, $J = 10$ Hz)
13	78,9		78,42	
14	27,9	1,4 (6H, s)	28,10	1,51 (6H, s)
15	27,9	1,4 (6H, s)	28,10	1,51 (6H, s)
16	41,3		41,61	
17	28,5	1,65 (6H, s)	29,85	1,65 (6H, s)
18	28,5	1,65 (6H, s)	29,85	1,65 (6H, s)
19	152,7	6,65 (1H, dd, $J=17,4$ Hz)	152,93	6,73 (1H, dd, $J = 17,5$ Hz)
20	107,4	4,95 (1H, d, $J=10$ Hz cis) 5,1 (1H, d, 17,4 Hz trans)	107,54	5,05 (1H, d, $J = 10,6$ Hz) 5,22 (1H, d, $J = 17,5$ Hz)

Senyawa **3** berbentuk pasta warna coklat dengan massa 11 mg. Seperti halnya senyawa **2**, struktur senyawa **3** ditentukan berdasarkan data spektroskopi UV, IR,  $^1\text{H-NMR}$  dan  $^{13}\text{C-NMR}$ .

Hasil spektrum UV menggunakan rentang 200-600 nm memberikan dua puncak serapan yaitu pada 262 nm dan 318 nm (Gambar 4.21). Puncak pada 262 nm menunjukkan adanya eksitasi elektron dari \* yang merupakan kromofor khas untuk sistem ikatan rangkap terkonjugasi ( $-\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{C}-$ ) dari senyawa aromatik. Sedangkan puncak pada 318 nm menunjukkan adanya eksitasi elektron dari \* yang menandakan adanya sistem terkonjugasi ( $-\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{O}$ ) dari suatu heteroatom dengan ikatan rangkap terkonjugasi. Dari data tersebut maka dapat disimpulkan bahwa senyawa **3** memiliki kerangka dasar yang sama seperti senyawa **2**, yaitu *san-ton*.



Gambar 4. 21 Spektrum UV dari senyawa **3** pada MeOH dan MeOH+NaOH

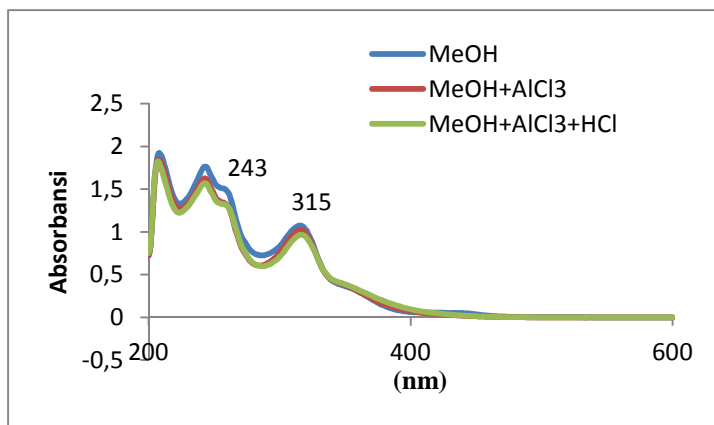
Untuk mengetahui keberadaan gugus hidroksi yang tersubstitusi pada posisi *ortho* atau *para* maka dilakukan pengujian menggunakan pereaksi geser UV, yaitu NaOH,  $\text{AlCl}_3$ , dan HCl. Penambahan NaOH sebagai pereaksi geser menyebabkan

50



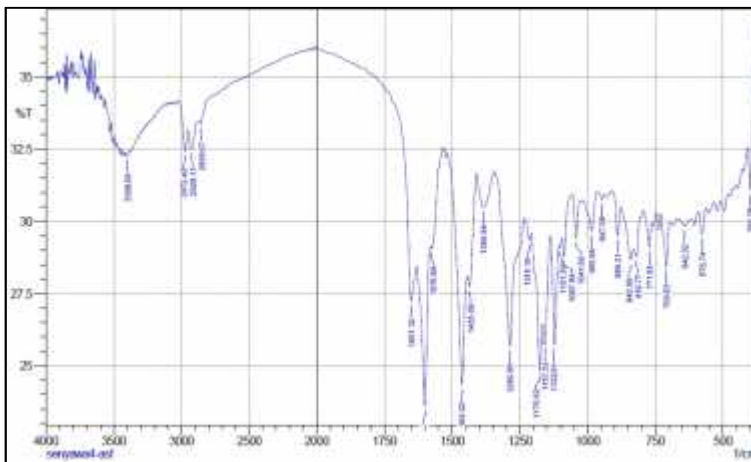
pergeseran batokromik pada pita pertama dari 262 nm menjadi 270 nm (Gambar 4.21). Hal ini menunjukkan adanya gugus penarik elektron (C=O) yang terletak pada posisi para dengan gugus pendorong elektron (-OH) dan mengalami kesetimbangan keto-enol. Hal ini menunjukkan adanya suatu senyawa fenolat (Ito dkk, 1997).

Penambahan  $\text{AlCl}_3$  pada senyawa **3** menyebabkan pergeseran batokromik pada spektrum UV-Vis yaitu dari  $\lambda_{\text{maks}}$  315 nm menjadi 317 nm (Gambar 4.22). Setelah ditambah HCl pergeseran UV masih menunjukkan panjang gelombang yang relatif sama. Kedua hal ini mengindikasikan bahwa senyawa **3** memiliki gugus hidroksi yang berada pada posisi *ortho*.



Gambar 4. 22 Spektrum UV pada MeOH, MeOH+ $\text{AlCl}_3$  dan MeOH+ $\text{AlCl}_3$ +HCl

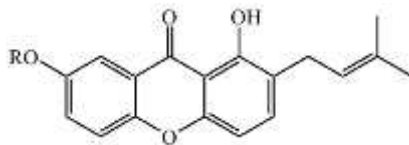
Dari hasil pembahasan analisis spektrum UV maka dapat disarankan bahwa senyawa **3** mempunyai kerangka santon dengan substitusi gugus hidroksi pada posisi *ortho* terhadap gugus karbonil.



Gambar 4. 23 Spektrum IR senyawa **3**

Selanjutnya analisis spektrum inframerah (IR) (KBr) pada bilangan gelombang 500-4000  $\text{cm}^{-1}$  (Gambar 4.23). Data IR menunjukkan adanya pita-pita serapan yang khas untuk beberapa gugus fungsi. Pita serapan pada bilangan gelombang 1651,12  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan adanya gugus karbonil terkhelat dan didukung dengan adanya bilangan gelombang 3398,69  $\text{cm}^{-1}$  yang mencirikan gugus hidroksi. Sedangkan pita serapan pada 2972,40  $\text{cm}^{-1}$ , 2926,11  $\text{cm}^{-1}$  dan 2856,67  $\text{cm}^{-1}$  mengindikasikan adanya gugus C-H alifatik ( $\text{sp}^3$ ). Selain itu kekhasan ( $\text{C}=\text{C}$ -) aril  $\text{sp}^2$  ditunjukkan pada bilangan gelombang 1464,02  $\text{cm}^{-1}$ , sedangkan C-O eter atau hidroksi pada 1286,56  $\text{cm}^{-1}$ .

Hasil analisis spektrum IR memperkuat dugaan bahwa senyawa **3** memiliki kerangka dasar santon terkhelat dengan substitusi gugus hidroksi pada posisi *ortho* terhadap karbonil, gugus prenil atau gugus metoksi (Gambar 4.24).



Gambar 4. 24 Dugaan kerangka sederhana senyawa **3** (R=H atau R=CH<sub>3</sub>)

Langkah selanjutnya untuk mendukung hipotesis struktur senyawa **3** yaitu dengan melakukan analisis data ( ) <sup>1</sup>H-NMR dan <sup>13</sup>C-NMR. Pengukuran NMR menggunakan frekuensi 400 MHz dengan pelarut kloroform (CDCl<sub>3</sub>). Data pergeseran ( ) <sup>1</sup>H-NMR senyawa **3** menunjukkan adanya 24 proton. Sedangkan spektrum <sup>13</sup>C-NMR menunjukkan senyawa **3** sedikitnya memiliki 24 atom karbon.

Data pergeseran ( ) <sup>1</sup>H-NMR senyawa **3** diketahui bahwa pada daerah *downfield* terdapat pergeseran kimia ( <sub>H</sub> ) 13,69 ppm (1H, s) yang menunjukkan ciri khas proton dari gugus hidroksil terkhelat pada C-1, hal ini diperkuat munculnya pergeseran kimia ( <sub>C</sub> ) 180,81 ppm. Dugaan adanya substituen hidroksi terkhelat juga telah dibuktikan oleh data IR dan UV. Pergeseran kimia ( <sub>H</sub> ) 6,28 (1H, s) dan ( <sub>H</sub> ) 6,16 (1H, s) menunjukkan adanya dua proton aromatik. Adanya gugus prenil tersiklisasi ditandai dengan munculnya gugus vinil pada ( <sub>H</sub> ) 6,72 (1H, d, *J*=10 Hz) dan 5,56 (1H, d, *J*=10 Hz). Dua gugus metilen ditunjukkan pada pergeseran kimia ( <sub>H</sub> ) 5,25 (1H, t, *J*=5,8 Hz) dan 4,08 (2H, d, *J*=5,8 Hz). Selanjutnya terdapat 4 proton metil pada pergeseran ( <sub>H</sub> ) 1,69 (3H, s), 1,83 (3H, s) dan 1,46 (6H, s). Selain itu, adanya pergeseran kimia ( <sub>H</sub> ) 3,80 ppm (3H,s) menunjukkan keberadaan gugus metoksi (-OMe) yang juga diperkuat dengan munculnya sinyal pada pergeseran ( <sub>C</sub> ) 142,84 ppm.

Adanya sinyal metil pada pergeseran ( <sub>H</sub> ) 1,46 (6H, s) diikuti munculnya dua sinyal doublet proton olefinik pada pergeseran ( <sub>H</sub> ) 6,72 (1H, d, *J*=10 Hz) dan 5,56 (1H, d, *J*=10 Hz) menandakan keberadaan 2,2-dimetil kromen (Triswan dan

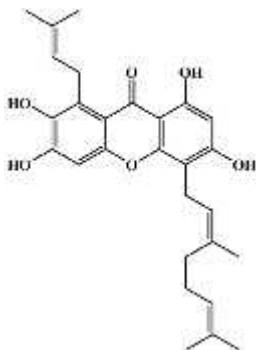
Ritthiwigrom, 2012). Hal ini juga dibuktikan dengan Pergeseran kimia ( $\delta$ ) 77,8 ppm merupakan ciri khas dari atom karbon percabangan gugus metil pada 2,2-dimetil kromen. Dari data  $^1\text{H-NMR}$  juga mengindikasikan adanya gugus prenil yang ditandai dengan munculnya dua gugus metilen pada pergeseran kimia ( $\delta$ ) 5,25 (1H, t,  $J=5,8$  Hz) dan 4,08 (2H, d,  $J=5,8$  Hz) diikuti oleh dua sinyal metil pada pergeseran kimia ( $\delta$ ) 1,69 (3H, s) dan 1,83 (3H, s). Pergeseran kimia grup metilen dapat memberikan informasi tentang letak gugus prenil pada cincin santon. Umumnya grup metilen memiliki pergeseran kimia ( $\delta$ ) 3,3-3,6 ppm (d,  $J=6-7$  Hz), namun akan mengalami *deshielded* jika berada pada C1 atau C8 karena pengaruh karbonil terkhelat (Silva dan Pinto, 2005). Pada Senyawa **3** grup metilan memiliki pergeseran kimia 4,08 (2H, d,  $J=5,8$  Hz), hal ini menandakan bahwa gugus prenil terletak pada posisi C8.

Sinyal lain yang muncul pada pergeseran kimia karbon yaitu munculnya sinyal ( $\delta$ ) 158,08 dan 155,89 ppm mengindikasikan karbon yang telah tersubstitusi oleh gugus hidroksi. Berdasarkan hasil analisis data  $^1\text{H-NMR}$  maka dapat disimpulkan bahwa senyawa **3** merupakan senyawa santon yang tersubstitusi oleh dua gugus hidroksi, satu gugus metoksi, satu gugus prenil, dan satu cincin dimetilkromen.

Untuk mengetahui posisi substituen pada senyawa **3**, maka dilakukan perbandingan data NMR terhadap senyawa santon yang telah diteliti sebelumnya. Berdasarkan Tabel 4.7 dapat dibuktikan bahwa senyawa **3** memiliki kemiripan data NMR dengan 9-hidroksikalabasanton. Sehingga dapat disimpulkan bahwa senyawa **3** merupakan senyawa yang telah dilaporkan sebelumnya yaitu 9-hidroksikalabasanton dengan rumus molekul  $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{O}_6$  (Trisuwan dan Ritthiwigrom, 2012).

Tabel 4. 7 Data perbandingan pergeseran (  $\delta$  )  $^1\text{H}$ -NMR dan  $^{13}\text{C}$ -NMR senyawa **3** dan 9-hidroksikalabasanton dalam  $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz (Trisuwan dan Ritthiwigrom, 2012)

Posisi C	9-hidroksikalabasanton		senyawa <b>3</b>	
	$^{13}\text{C}$ - NMR	$^1\text{H}$ -NMR	$^{13}\text{C}$ - NMR	$^1\text{H}$ -NMR
1	157,8	13,70 (1H,s, 1-OH)	158,08	13,69 (1H,s)
2	104,4		104,64	
3	159,8		160,03	
4	94,0	6,24 (1H, s, H-4)	94,3	6,23 (1H, s)
4a	156,1		156,43	
5	101,6	6,83 (1H, s, H-5),	101,83	6,82 (1H, s)
6	154,5		154,75	
7	142,7		142,84	
8	136,9		137,16	
8a	112,1		112,35	
9	181,8		182	
9a	103,6		103,88	
10a	155,6		155,89	
11	115,6	6,73 (1H, d, $J$ = 9,9 Hz, H-11)	115,86	6,72 (1H, d, $J$ = 10,0 hz)
12	126,9	5,57 (1H, d, $J$ = 9,9 Hz, H-12),	127,27	5,56 (1H, d, $J$ =10,0 hz)
13	77,8		78,08	
14	28,3	1,46 (6H, s, H-14, 15)	28,46	1,46 (6H, s)
15	28,3	1,46 (6H, s, H-14, 15)	28,46	1,46 (6H, s)
16	26,5	4,09 (2H, d, $J$ = 6,6 Hz, H-16),	26,69	4,08 (2H, d, $J$ =5,8 hz)
17	123,1	5,27 (1H, brt, $J$ = 6,6 Hz, H-17)	123,28	5,25 (1H, t, $J$ =5,8 hz)
18	131,8		132,28	
19	25,6	1,70 (3H, s, H-19)	25,94	1,69 (3H, s)
20	18,1	1,83 (3H, s, H-20)	18,35	1,83 (3H,s)
21	61,8 (7-OMe)	3,83 (3H, s, 7-OMe)	62,17	3,80 (3H, s, 7-OMe)



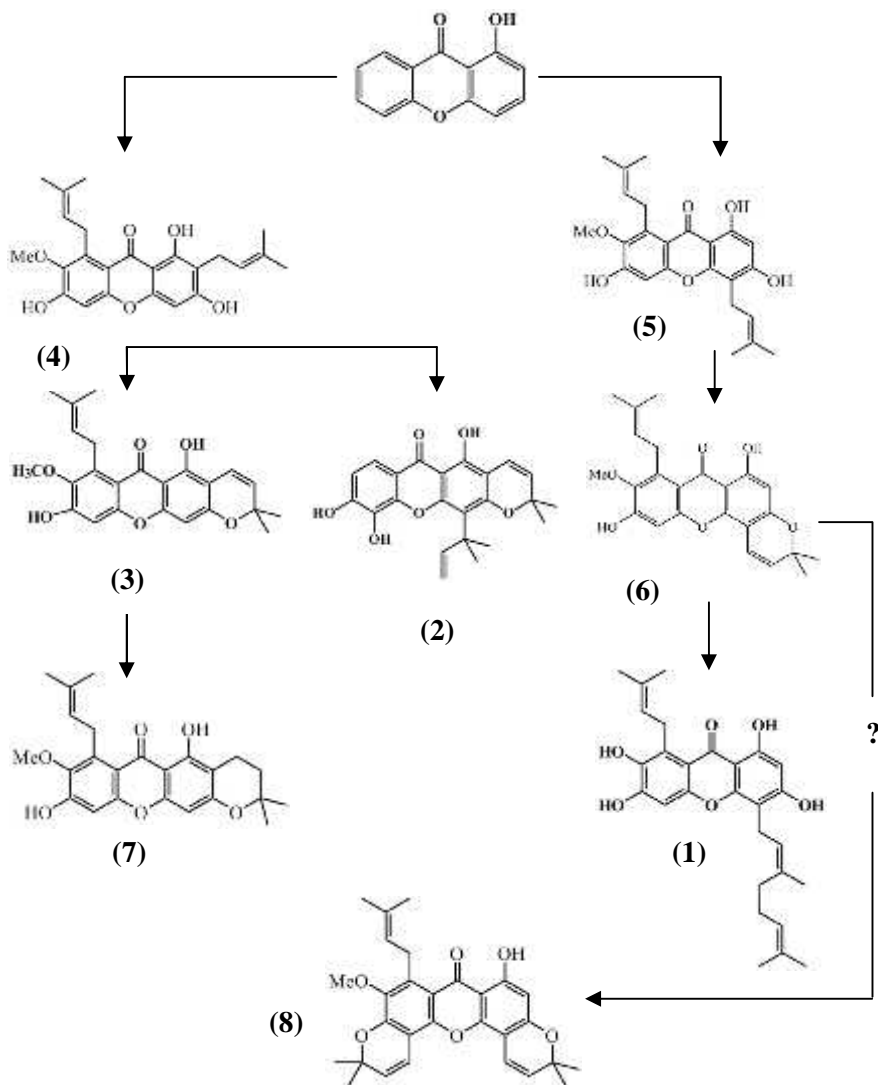
(1)



(3)

Selain senyawa **2** dan **3**, pada penelitian ini juga didapatkan juga senyawa **1** dalam bentuk serbuk berwarna kuning dengan titik leleh 154-155°C. Senyawa **1** juga ditemukan pada penelitian lain yang dilakukan oleh Zuhra, 2017 dan telah diidentifikasi strukturnya sebagai parvifolisanton C. Pada penelitian ini, penentuan struktur senyawa **1** dilakukan berdasarkan analisis data spektroskopi UV-vis, IR, <sup>1</sup>H-NMR dan <sup>13</sup>C-NMR. Data-data tersebut dilampirkan pada Lampiran B.

Dari senyawa **1**, **2** dan **3**, maka dapat dipetakan saran jalur pembentukan senyawa santon yang baru dari *G.tetrandra* Pierre seperti pada Gambar 4.25. Senyawa **3** terbentuk karena senyawa **4** mengalami siklisasi oksidatif antara gugus prenil pada posisi C2 dan gugus hidroksi posisi C3 sehingga membentuk gugus kromen. Lebih lanjut gugus metilen pada kromen mengalami hidrogenasi sehingga terbentuk senyawa **7**. Sedangkan senyawa **1** terbentuk karena senyawa **5** mengalami perpanjangan rantai prenil posisi C4 sehingga membentuk gugus geranil. Selain itu juga ditemukan senyawa **3** yang memiliki gugus 2,2-dimetilalil pada posisi C4 dimana gugus tersebut merupakan modifikasi lain dari senyawa **4**. Dari Gambar 4.25 dapat diketahui bahwa muncul peluang baru ditemukannya senyawa santon lain dari isolasi *G.tetrandra* Pierre.



Gambar 4. 25 Jalur biogenesis pemebentukan senyawa santon dari isolasi *G.tetrandra* Pierre

**“Halaman ini sengaja dikosongkan”**



## **BAB V**

### **KESIMPULAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Telah berhasil diisolasi tiga senyawa santon terprenilasi, yaitu parvifolisanton C (**1**), maklurasanton (**2**) dan 9-hidroksikalabasanton (**3**) dari akar *G.tetrandra* Pierre yang berasal dari Taman Nasional Meru Betiri Jember, Jawa Timur. Ketiga senyawa tersebut pernah ditemukan pada penelitian sebelumnya, yaitu parvifolisanton dari *Garcinia parvifolia*, maklurasanton dari *Garcinia speciosa* dan 9-hidroksikalabasanton dari *Garcinia cowa*. Senyawa **1**, **2** dan **3** dapat melengkapi afinitas kimia dari tumbuhan *G.tetrandra* sehingga mampu memenuhi jalur biogenesis senyawa santon dari *G.tetrandra* Pierre.

#### **5.2 Saran**

Berdasarkan jalur biogenesis pembentukan senyawa santon dari *G.tetrandra* Pierre (Gambar 4.25), dapat diketahui bahwa muncul peluang-peluang untuk mendapatkan senyawa santon baru dari tumbuhan *G.tetrandra* Pierre. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melengkapi afinitas kimia dari tumbuhan *G.tetrandra* sehingga mampu memenuhi jalur biogenesis pembentukan senyawa santon dari *G.tetrandra* Pierre.

**“Halaman ini sengaja dikosongkan”**

## DAFTAR PUSTAKA

- Agrawal, V., Desai, S. (2015). Centrifugally accelerated thin layer chromatography for isolation of marker compounds and bioactive. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 3(6): 145-149.
- Astuti, S.E. (2005). Dua Diprenilsanton pada Kulit Akar Wadung (*Garcinia tetranda* Pierre). Skripsi, ITS. Surabaya.
- Colegate, S.M., Molyneux, R.J. (2007). Bioactive natural products: Detection, Isolation, and Structural Determination Second Edition. CRC press, Taylor & Francis Group.
- Cronquist, A. (1981). An Integrated System of Classification of Flowering Plants. XVI.
- Dharmante, H.R.W., Wanigasekera, W. M. A. P. (1996). Xanthone from Root Bark of *Chalophyllum thwaitesii*. *Phytochemistry* 42 (1) 249-250).
- Ermawati, D.M. (2006). Santon Diprenilasi dan Triprenilasi dari Fraksi Kloroform Kulit Batang *Garcinia tetranda* Pierre (Wadung). skripsi, ITS, Surabaya.
- Fessenden R.J., Fessenden J. S. (1986). Organic chemistry 3rd ed. USA: Wadsworth Inc.
- Hardjosudirdjo, W. (1991). Kimia Organik Untuk Universitas . Yogyakarta: FMIPA UGM.
- Hart, H., Craine, L.E., Hart, D.J. (2003). Kimia Organik : suatu Kuliah Singkat (11 ed.). Jakarta: Erlangga.
- Heyne, K. (1987). Tumbuhan Berguna Indonesia, Jilid 3. Departemen Kehutanan. Jakarta.
- Houghton, P. J., Raman, A. (1998). Laboratory Handbook for the Fractionation of Natural Extracts. Chapman and Hall: London.
- Hostettmann, K., Hostettmann, M., Marston, A. (1995). Cara Kromatografi Preparatif. Bandung: Penerbit ITB.
- Ibnu G. G., Abdul, R. (2008). Kimia farmasi analisis. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.

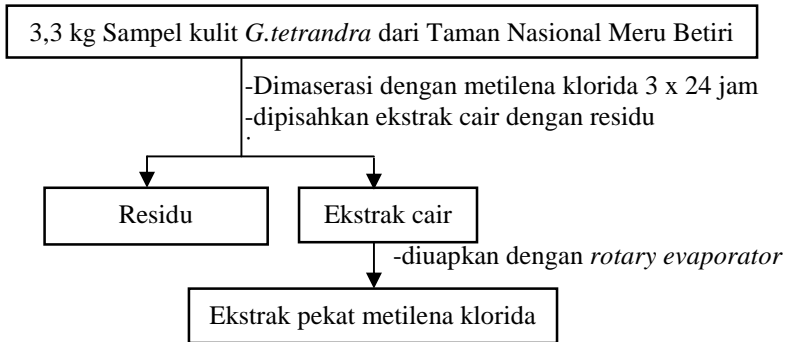
- Ito, C., Itoigawa, M., Miyamoto, Y., Rao, K.S., Takayasu, J., Okuda, Y., Mukainaka, T., Tokuda, H., Nishino, H., Furukawa, H. (1999). A New Biflavonoid from *Calophyllum paniculatum* with Antitumor-Promoting Activity. *Journal of Natural Product*. 12. 1668-1671.
- J.P. Cannell, Ricard. (1998). *Natural Products Isolation*. New Jersey: Humana Press.
- Kharomah, F. R. (2015). Sebuah santan terprenilasi dari kayu akar *Garcinia tetranda* Pierre . Skripsi, ITS, Surabaya
- Kristanti, Alfinda, N., Aminah, Nanik S., Tanjung, M., dan Kurniadi, B. (2008). *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Universitas Airlangga Press.
- Lukis, P.A. dan Etsam, T. (2010). Dua Senyawa Mangostin dari Ekstrak N-Heksana pada Kayu Akar Manggis (*Garcinia Mangostana* Linn) Asal Kab. Nganjuk Jawa Timur. *Prosiding Tugas Akhir Semester Genap 2010/2011*, Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
- Meilani, A. (2006). Santan Terprenilasi dan Tersiklisasi Baru Fraksi Non-polar dari Ekstrak n-heksana pada Akar *Garcinia tetranda* Pierre. Skripsi, ITS, Surabaya.
- Morita, H., Takashi, Y., Noguchi, H., Abe, I. (2000). Enzymatic Formation of Natural aromatic poliketide by chalcone Synthase. *Biochemical and Biophysical Research Communication*, 297(1): 190-195.
- Oxtoby. (2003). *Prinsip-Prinsip Kimia Modern* (Edisi Ke 4 Jilid 2 ed.). Jakarta: Erlangga.
- Pavia D.L., Lampman. G.M., Knitz. G.S. (1990). *Introduction to Organic Laboratory Techniques a Contemporary Approach*. Second Edition. New York: Sainders College Publishing.
- Pavia D.L., Lampman. G.M., Knitz. G.S. (2001). *Introduction to Organic Laboratory Techniques a Contemporary approach*. Second Edition. New York: Sainders College Publishing.

- Peres, V., Nagem, T.J. (1997). Trioxxygenated Naturally Occuring Xanthones. *Phytochemistry*. 44. 191-214.
- Peres V., Nagem. T. J., Oliveira. F.F. (2000). Tetraoxxygenated naturally occurring xanthones. *Phytochemistry* 55 , 683–710.
- Poole, C.F., & Salwa, K. (1991). *Chromatography Today*. Amsterdam: Elsevier Science Publisher.
- Purwaningsih, Y. (2006). Dua Senyawa Santon Sebagai Antioksidan dari Kayu Batang *Garcinia tetranda* Pierre. Kimia, ITS. Surabaya.
- Riyanto, A. (2006). Isolasi dan Uji Bakterial Senyawa Santon dari Kayu Akar *Garcinia tetranda* Pierre. Tesis, Program Studi Magister Kimia, Jurusan Kimia, FMIPA, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya.
- Rizani, N., (2006), Dua Senyawa Santon Diprenilasi dari Ekstrak Diklorometana Kulit Akar *Garcinia tetranda* Pierre, Skripsi S.Si., Kimia, ITS, Surabaya.
- Semwal, R. B., Semwal, D. K., Vermaak, I., Viljoen. (2015). A Comprehensive Scientific Overview of *Garcinia cambogia*. *Fitoterapia* 3132.
- Silva, A.M.S., Pinto, D.C.G.A. (2005). Structure Elucidation of Xanthone Derivatives: Studies of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. *Current Medicinal Chemistry*, 12, 2481-2497.
- Silverstein, R.M., Webster, F., and Kiemle, D. (2005). *Spectrometric Identification of Organic Compounds* 7th Edition. John Wiley and Sons, Inc.
- Suksamram, S., Suwannapoch, N., Phakhodee, W., Thanuhilanlert, J., Ratnanukul, p., Chimmoi, N., Suksamram, A. (2003). Antimycrobacterial Activity of Prenilated Xanthones from Fruits of *Garcinia Mangostana*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 51, 857-859.
- Sulistyaningrum, N., (2008), “Biflavonoid dari Kayu Batang *Garcinia tetranda* Pierre : Isolasi, Penentuan

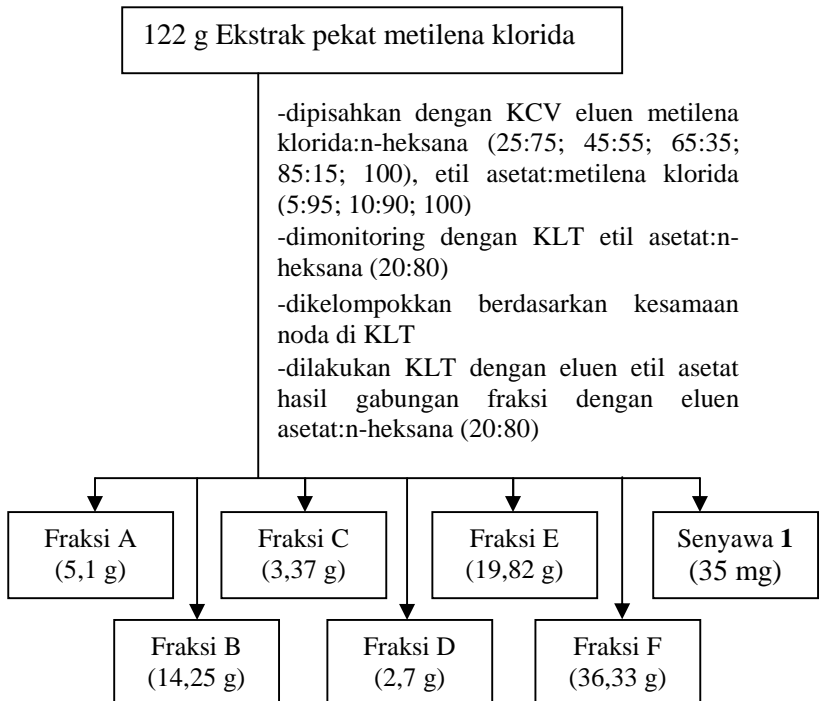
- Struktur dan Uji Antibakteri, Tesis Magister, Kimia ITS, Surabaya.
- Sultanbawa, M.U.S. (1980). Xanthonoids of Tropical Plants. *Tetrahedron* 36, 1465–1506.
- Sungsuwon, C., Jiratchariyakul, W. (2015). Antiproliferative effect of lung cancer cell lines and antioxidant of Macluraxanthone from *Garcinia speciosa* Wlil. *Procedia - Social and Behavioral Sciences*. 197: 1422 – 1427.
- Tanaka, N., Takaishi, Y., Shikishima, Y., Nakanishi, Y., Bas, Bastow, K., dkk. (2004). Prenylated benzophenones and xanthenes from *Hypericum ascyron*. *J. Nat. Prod*, 63, 1870-1875.
- Trisuwan, K. dan Ritthiwigron, T. (2012). Benzophenone and Xanthone Derivatives from the Inflorescences of *Garcinia cowa*. *Archives of Pharmacal Reserch* Vol 35, No 10, 1733-1738, 2012.
- Viviyanti, R. dan Ersam, T. (2015). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Turunan Santon dari Kayu Batang *Garcinia tetrandra* Pierre. Skripsi, Program Studi Sarjana Kimia, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya.
- Vogel. (1990). Analisis Anorganik Kualitatif Mikro dan Semimikro. Jakarta: PT Kalman Media Pustaka.
- Wahyudi, M. R. (2015). Biflavonoid dari Kulit Batang *Garcinia tetrandra* Pierre. Skripsi, ITS, Surabaya
- Wijayanto, B. (2006). Isolasi Terpenilasi dari Fraksi Polar Diklorometana pada ekstrak Metanol kulit batang wadung (*Garcinia tetrandra* Pierre). Skripsi, ITS, Surabaya.

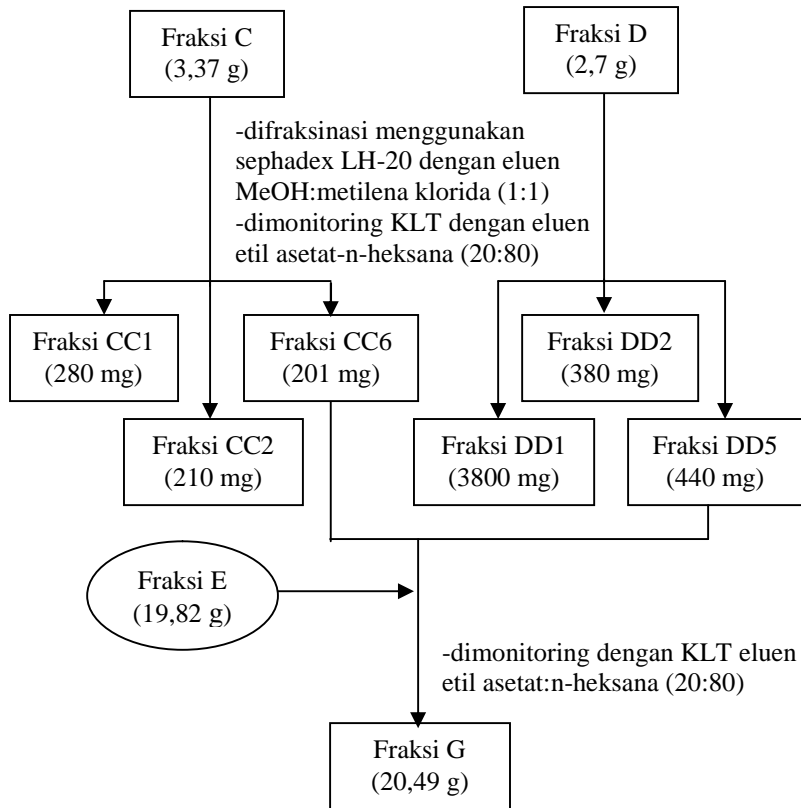
## LAMPIRAN A

### A.1 Ekstraksi

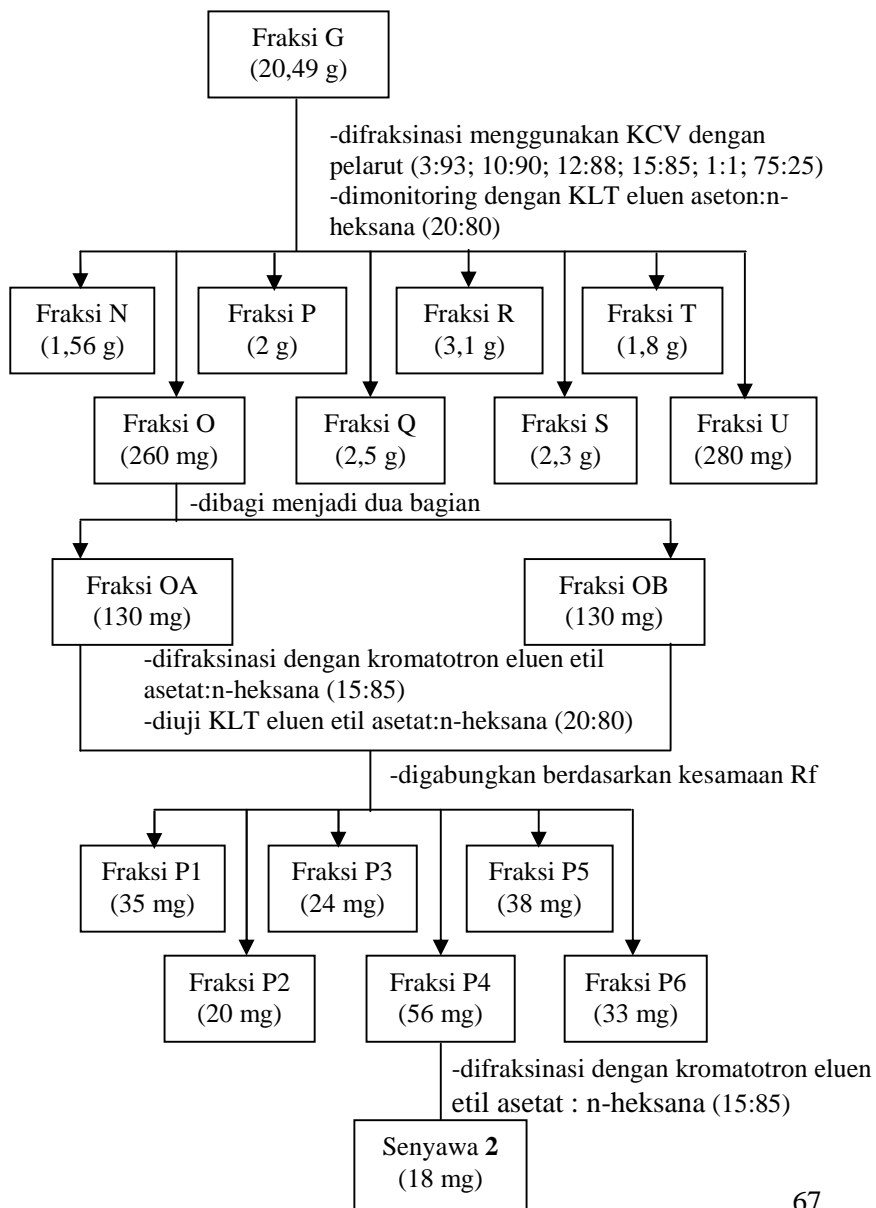


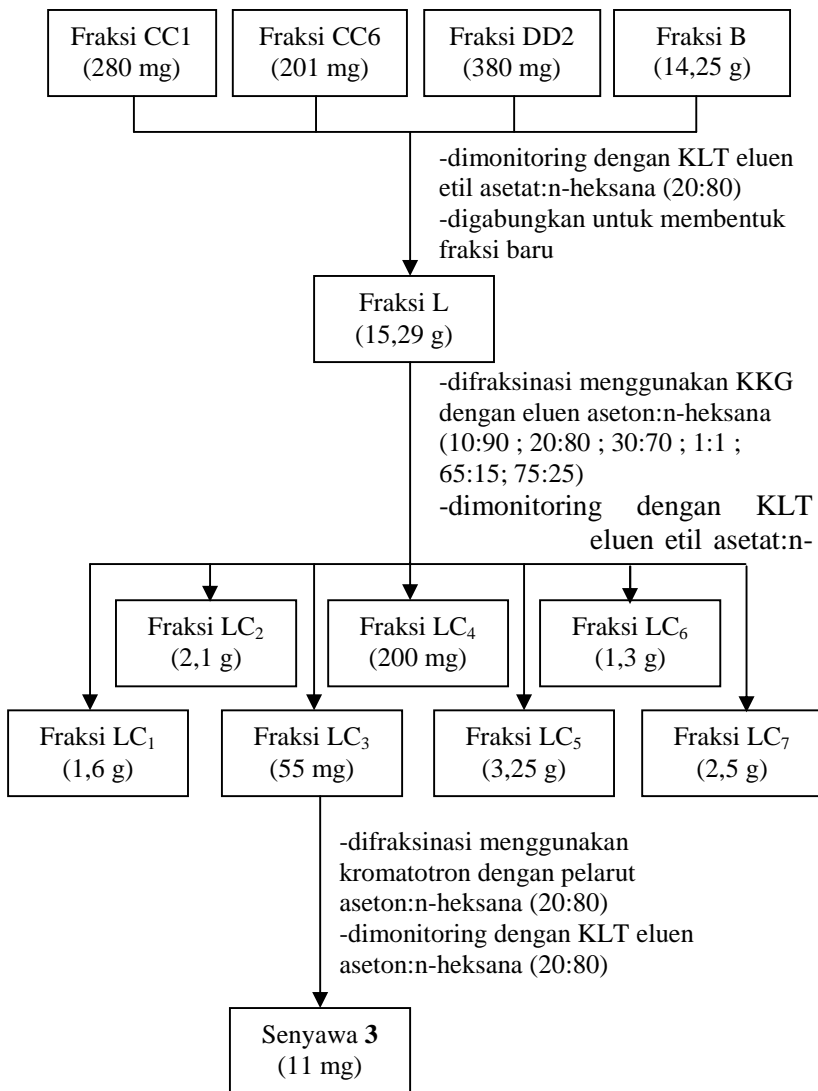
### A.2 Fraksinasi dan Pemurnian





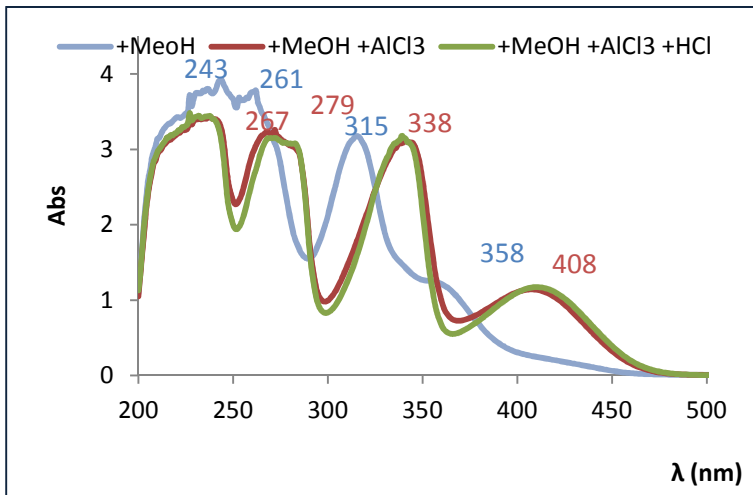
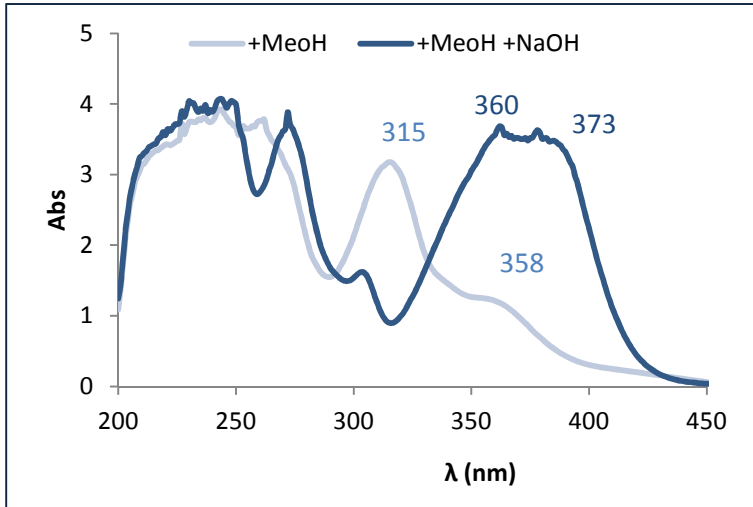




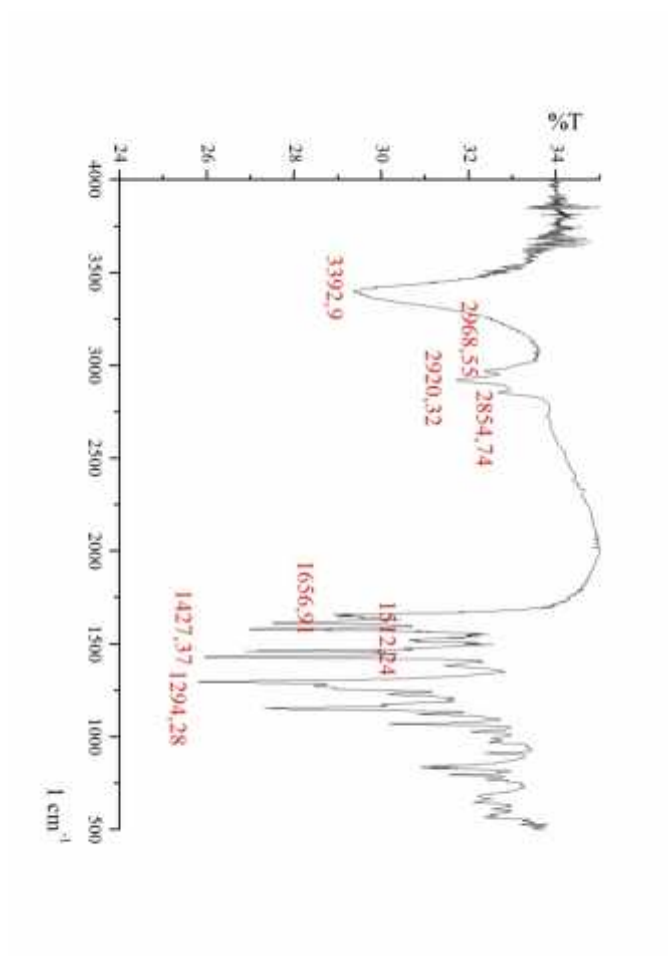


## LAMPIRAN B

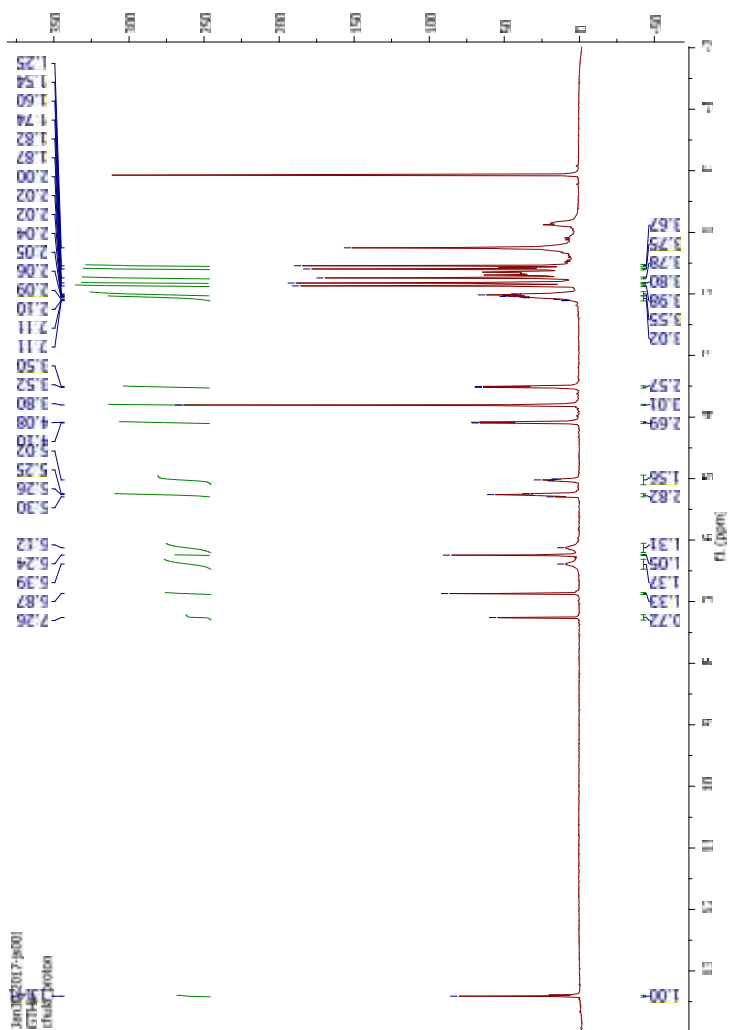
### B.1 Spektum UV Senyawa 1



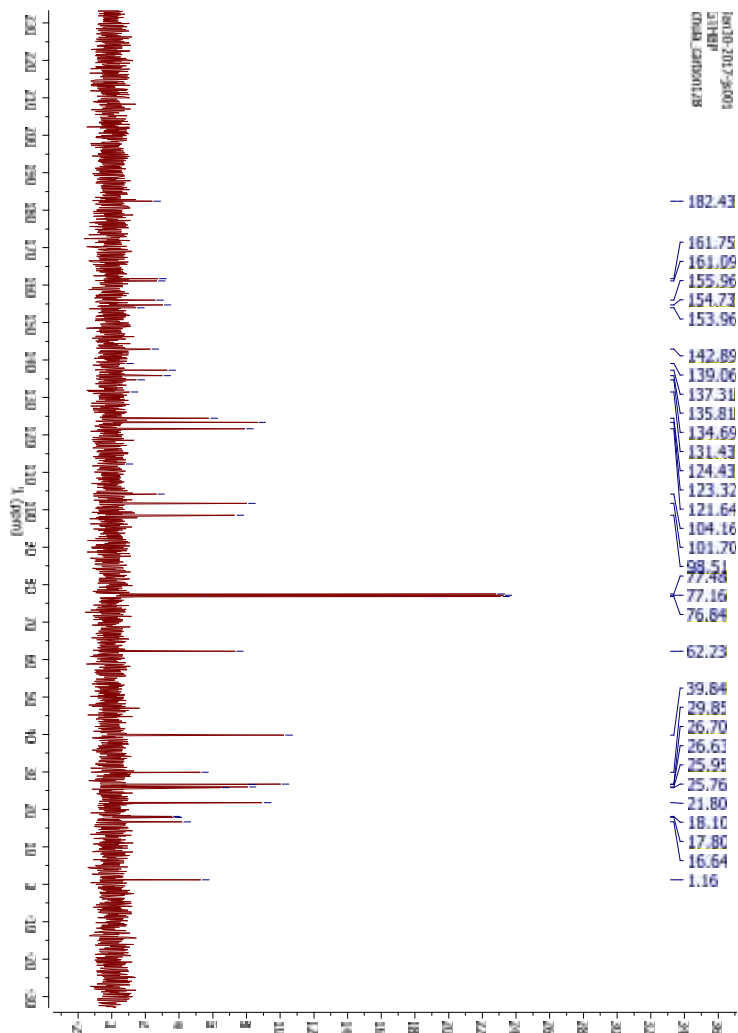
## B.2 Spektum IR Senyawa 1



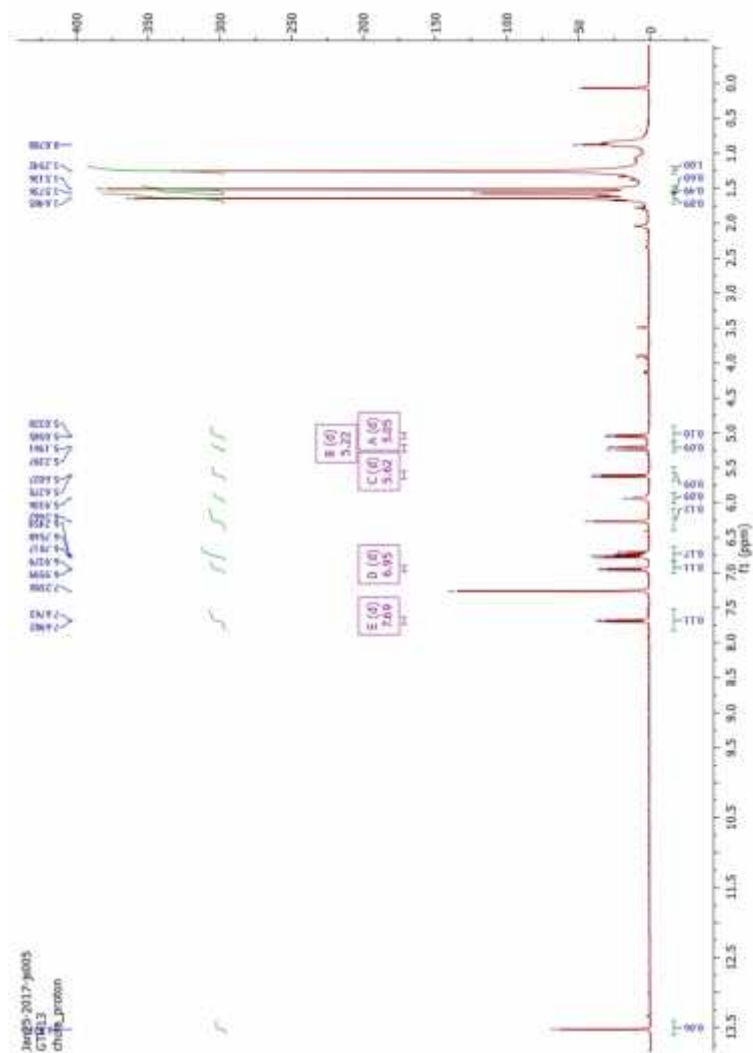
### B.3 Spektum $^1\text{H}$ -NMR Senyawa 1



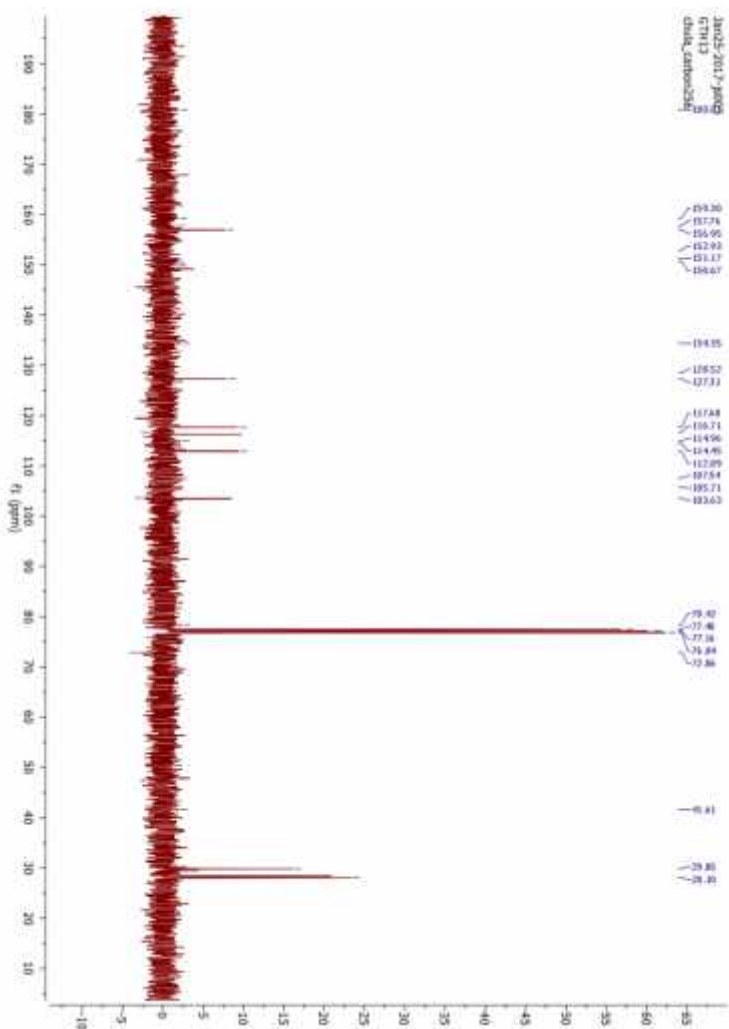
## B.4 Spektum $^{13}\text{C}$ -NMR Senyawa 1



## B.5 Spektum $^1\text{H}$ -NMR Senyawa 2

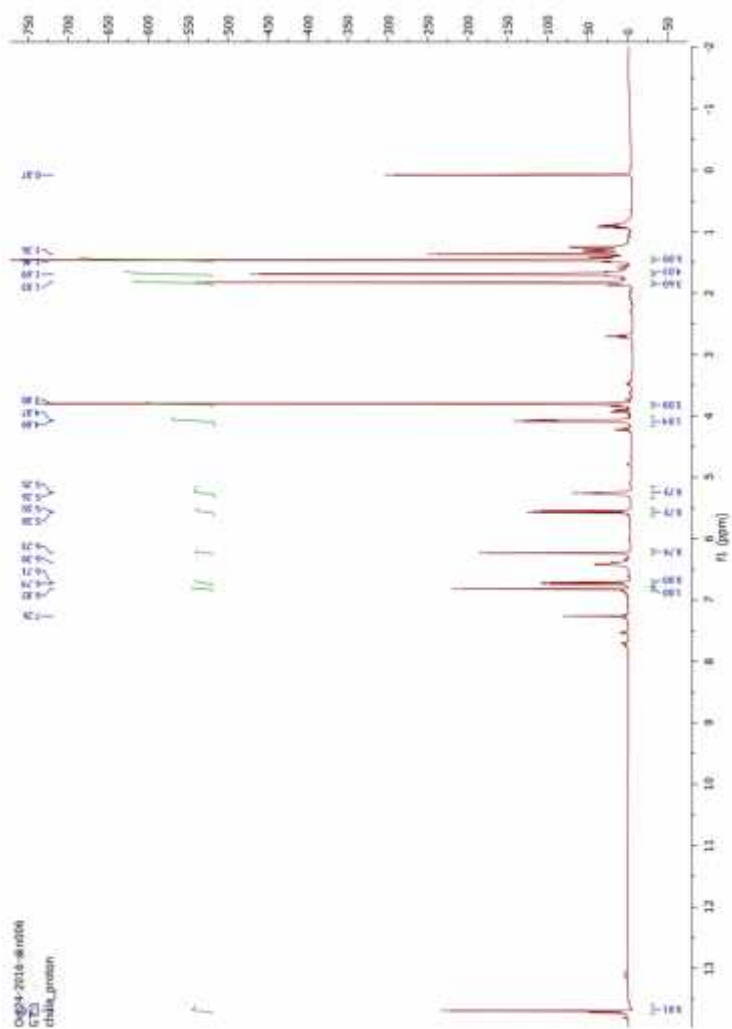


## B.6 Spektum $^{13}\text{C}$ -NMR Senyawa 2

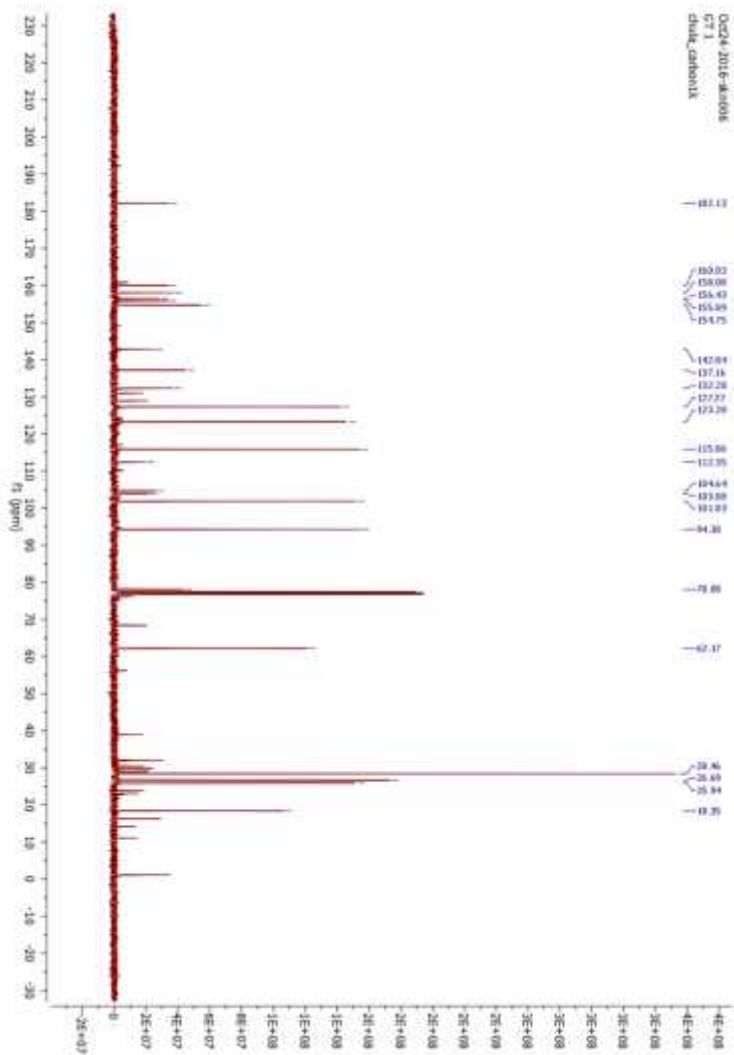




## B.7 Spektum $^1\text{H}$ -NMR Senyawa 3



## 76



## LAMPIRAN C

### C.1 Surat keterangan identifikasi tumbuhan *Garcinia tetrandra* Pierre dari Kebun Raya Purwodadi



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA  
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)  
UPT BALAI KONSERVASI TUMBUHAN  
KEBUN RAYA PURWODADI

Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 45 Purwodadi - Pasuruan 67163  
Telp. (+62 343) 615033, Faks. (+62 343) 426646  
website : <http://www.krpurwodadi.lipi.go.id>



#### SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI

No. 22-D/IPH.6/HM/11/2017

Kepala UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi dengan ini menerangkan bahwa material tumbuhan yang dibawa oleh :

Fairatul Muthiah, NRP : 1413 100 038

Mahasiswa Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Teknologi Sepuluh Nopember, datang di UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi pada tanggal 10 Februari 2017, berdasarkan hasil identifikasi/determinasi spesimen herbarium, dan koleksi kebun serta menurut buku, An Alphabetical List of Plant Species Cultivated in The Purwodadi Botanic Garden, tahun 2013

nama ilmiahnya adalah :

Genus : *Garcinia*  
Species : *Garcinia tetrandra* Pierre (Ba. v. 10 : 112 - 126 : 19)

Athapun menurut buku An Integrated System of Classification of Flowering plants, karangan Arthur Cronquist tahun 1991, jumlah XVI klasifikasinya adalah :

sebagai berikut :

Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Dilleniidae
Ordo	: Flacales
Family	: Clusiaceae

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 17 Februari 2017

An. Kepala

Seksi Ekspansi dan Koleksi Tumbuhan



Hedon Sudiana, S.Hut, M.Si

**“Halaman ini sengaja dikosongkan”**

## BIODATA PENULIS



Penulis bernama lengkap Faizatul Muthiah, dilahirkan di Sidoarjo, 13 Juni 1995 sebagai anak terakhir dari pasangan Bapak M. Zainal Arifin dan Ibu Sholichah dengan tiga orang kakak. Penulis telah menempuh pendidikan formal yaitu di RA Masyithoh Sentul (2000-2001), MI Ma'arif Sentul Tanggulangin (2001-2007), SMPN 1 Candi (2007-2010) dan SMAN 2 Sidoarjo (2010-2013). Penulis diterima di Departemen Kimia ITS melalui jalur SNMPTN undangan dan terdaftar sebagai mahasiswa dengan NRP 1413 100 038. Selama menempuh pendidikan di ITS penulis aktif dalam organisasi dan kegiatan tingkat jurusan, fakultas serta institut. Penulis pernah menjabat sebagai Staff Departemen Sosial Himpunan Mahasiswa Kimia 2013/2014 dan Sekretaris Departemen Sosial Himpunan Mahasiswa Kimia 2014/2015. Penulis juga merupakan Peserta aktif LKMM PraTD (2013) dan LKMM TD (2014). Di luar kegiatan perkuliahan penulis juga aktif mengikuti kegiatan belajar mengajar di Kampung Binaan Himpunan Mahasiswa Kimia (2015/2016). Penulis mengambil bidang minat Isolasi Kimia Bahan Alam dalam menyelesaikan Skripsi jenjang S1 dibawah bimbingan Prof. Dr. Taslim Ersam. Penulis dapat dihubungi melalui [faizatul.muthiah@gmail.com](mailto:faizatul.muthiah@gmail.com).

**“Halaman ini sengaja dikosongkan”**